UNDERSØGELSER

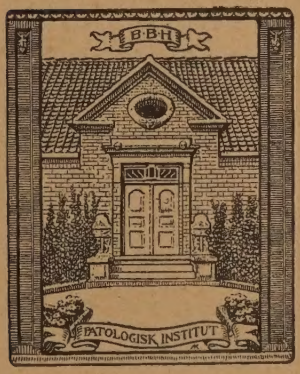
OVER

WRIGHTS BLODPLADETEORI

EN TEKNISK, HISTOLOGISK
OG
EXPERIMENTEL STUDIE

AF

SVEND PETRI



LEVIN & MUNKSGAARDS FORLAG
KØBENHAVN · MCMXXVI

BEKJENDTGJØRELSE

Ministeriet for Kirke- og Undervisningsvæsenet har under 12te April 1855 og 27de Juni 1878 bifaldet følgende Bestemmelser til Ordens Opretholdelse ved det offentlige Forsvar af Afhandlinger for Erhvervelsen af akademiske Grader, nemlig:

1. Forsvarshandlingen styres af Fakultetets Dekanus eller af en anden dertil af Fakultetet udnævnt Professor. Styreren giver Ordet og paaser, at Handlingen foregaar paa en værdig Maade; han kan paalægge en Opponent at ophøre og i fornødent Fald afbryde Handlingen. Styreren deltager ikke selv i Disputationen. Foruden de officielle Opponenter ere de Medlemmer af Fakultetet, under hvis Videnskabs Fag Disputatsens Æmne hører, og som ej have lovligt Forfald, pligtige til at overvære Forsvarshandlingen.
2. Berettigede til at optræde som Opponenter ere ordentligvis kun akademiske Borgere, uden Hensyn til Livsstilling, samt Kandidaterne fra det polytekniske Institut og det forrige kirurgiske Akademi. Andre, som ønske at opponere, maa derom forud henvende sig til vedkommende Fakultet.
3. De, som ville opponere, have at melde sig hos Fakultetets Dekanus *inden* Begyndelsen af Handlingen; dog kan Styreren ogsaa give Tilladelse under selve Handlingen, men uden at betage dem, som tidligere have meldt sig, Forretten.
4. Der tilstaas ordentligvis hver af Opponenterne ex officio $1^1/_2$ Time og hver Opponent ex auditorio $^3/_4$ Time, derunder indbefattet den Tid, Doktoranden behøver til at give Svar; dog kan Styreren, for saa vidt som Antallet af de anmeldte Opponenter tillader det, tilstaa en længere Tid. Hele Handlingen maa ikke vare over 6 Timer.
5. Foranførte Bestemmelser skulle indtil videre trykte medfølge enhver Disputats.

Dette bekjendtgjøres herved til Efterretning for alle Vedkommende.

Konsistorium, den 3dje Juli 1878.

C. HOLTEN.
(L. S.)

GOOS.

UNDERSØGELSER OVER WRIGHTS BLODPLADETEORI

Forsvaret finder Sted Torsdag den 17. Juni 1926 Kl. 2
i Universitets-Annekset, Studiestræde 6, o. G.

UNDERSØGELSER

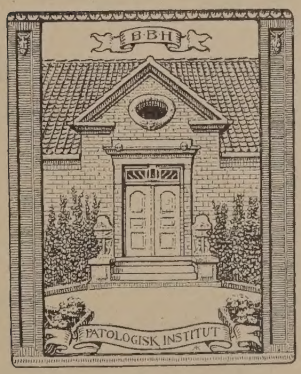
OVER

WRIGHTS BLODPLADETEORI

EN TEKNISK, HISTOLOGISK
OG
EXPERIMENTEL STUDIE

AF

SVEND PETRI



LEVIN & MUNKSGAARDS FORLAG
KØBENHAVN · MCMXXVI

Denne Afhandling er af det lægevidenskabelige Fakultet antaget til offentlig at forsvares for den medicinske Doktorgrad.

København, den 22. Februar 1926.

C. E. Bloch,
h. a. dec.

Tilegnet

Professor Dr. med. Vilhelm Ellermann's Minde.

INDHOLDSFORTEGNELSE

Side

Forord 9

Indledning 11

Historisk Oversigt 13

Wrights Blodpladeteori 14

Teoriens Tilhængere 15

Teoriens Modstandere 21

Om den til de histologiske Undersøgelser anvendte Teknik 24

Wrights Granulafarvemetode 24

Om Fixationsforsøgene 26

Om Farvetekniken 40

Metode til elektiv Farvning i Snitpræparater af Megakaryocyternes azurofile Granula 50

AFSNIT I: UNDERSØGELSER OVER WRIGHT-TEORIENS HISTOLOGISKE GRUNDLAG 57

Om uregelmæssigt formede Megakaryocyter, de saakaldte Wrightske Figurer 60

Tidligere Undersøgelser 60

Egne Undersøgelser 66

i Enkeltsnit (à 4—5 μ) 67

i Enkeltsnit (à 8—10 μ) 70

i Seriesnit (à 4—5 μ) 72

Om „Felderung" 78

Om hvorvidt intravaskulært lejrede Megakaryocyter besidder Evne til at danne Blodplader 82

Beskrivelse af de Wrightske Figurer 87

Om Blodpladernes Farvning i Snitpræparater 90

Om den af Wright foretagne Systematisering af Megakaryocyterne, samt disse Cellers Skæbne i Organismen 103

Side

AFSNIT II: UNDERSØGELSER OVER MEGAKARYOCYTERNES OG BLODPLADERNES NUMERISKE FORHOLD 115

Indledning 117

Om den til mine Experimenter anvendte Teknik 121

Almindelige Bemærkninger 121

Om Tekniken ved Blodundersøgelserne 123

Erythrocyter 124

Blodplader 125

Om Paavisning af Megakaryocyter i det cirkulerende Blod 141

Om Tælling af Megakaryocyter i Snitpræparater 143

Arten og Fordelingen af Marven i de forskellige Knogler hos Kaniner ... 159

Den daglige Blodprøvetagnings Indflydelse 162

Undersøgelse af normale Kaniner 163

Experimenter 172

Forsøg med Saponin 173

Aareladningsforsøg 189

A Forsøg med simpel Aareladning 189

B Forsøg med Aareladning og Geninjektion af det defibrinerede Blod 203

C Forsøg med Aareladning og Geninjektion af Erythrocyterne og Leukocyterne 210

Forsøg med Pyrodin 213

Forsøg med Pepton 220

Resumé 227

Litteraturfortegnelse 232

Forklaring til Farvetavlerne 241

Farvetavler.

FORORD

Dette Arbejde har sin Oprindelse udfra Ønsket om i Snitpræparater fra bloddannende Organer at se de af Amerikaneren Wright beskrevne, uregelmæssige Megakaryocytfigurer, der er blevet sat i Forbindelse med Blodpladedannelsen.

De tidligere anvendte Undersøgelsesmetoder og de dermed vundne Resultater viste sig hurtigt at besidde iøjnefaldende Mangler, hvorfor det i højeste Grad maatte anses for paakrævet at underkaste forskellige Forhold vedrørende Wrights Blodpladeteori en indgaaende Analyse.

For at kunne gennemføre den hertil nødvendige histologiske og experimentelle Studie er jeg kommet ind paa ret omfattende Undersøgelser over Fixation og Farvning af Snitpræparater fra hæmatopoietiske Organer samt Tælling af Blodplader og Megakaryocyter.

De Undersøgelser, der ligger til Grund for dette Arbejde, tog sin Begyndelse i Oktober 1922 og er i det væsentlige blevet udført i de derpaa følgende 20 Maaneder, hvori jeg gjorde Tjeneste som frivillig Assistent paa Bispebjerg Hospitals pathologiske Institut.

Jeg staar i stor Taknemlighedsgæld til min afdøde Chef, Professor Ellermann, ikke alene for Tilskyndelsen til at indlede disse Undersøgelser og for de glimrende Arbejdsvilkaar, der er blevet mig tilstaaet, men især for den aldrig svigtende Interesse, hvormed denne hæmatologiske Studie er fulgt, og den Opmuntring, der er blevet mig til Del. Jeg mindes med Tak de forskellige Maader, hvorpaa Professoren har staaet mig bi, samt, hvad der i de forløbne Aar er givet mig Lejlighed til at lære.

Fremdeles takker jeg Professor Thomsen for den Interesse, jeg har mødt, og de Raad, der er blevet mig ydet efter min Chefs Død.

Endvidere skylder jeg Professor Bock og Hospitalsapotheker Normann-Jensen Tak for den Imødekommenhed, de, ligesom afdøde Hospitalsapotheker Marcussen, har vist mig med Fremskaffelsen af de til mine Undersøgelser anvendte Kemika.

Tillige takker jeg Institutets Sekretær, Frøken Gjedde Olsen, for udmærket Hjælp med Skæring af mikroskopiske Præparater og mere kontormæssigt Arbejde, ligesom Translatør Wriborg takkes for den Beredvillighed og Akkuratesse, hvormed de italienske Texter er blevet oversat for mig.

Resultatet af mine Undersøgelser over Blodpladetælling er tidligere i oversigtsmæssig Form fremkommet som et Par foreløbige Meddelelser.

6. December 1924.

SVEND PETRI.

Efterskrift.

I Efteraaret 1925 maatte det af forskellige Grunde anses for hensigtsmæssigt at fremkomme med en Oversigtsartikel (i Acta path. & microbiol. Vol. II, Fasc. II) over de i dette Arbejde omtalte Undersøgelser.

S. P.

INDLEDNING

Talrige Teorier er i Aarenes Løb blevet fremsat til Forklaring af Blodpladernes Genese. Naar Hypothesernes Antal er saa anseligt, skyldes det, at ingen, hverken gennem histologiske, kliniske eller experimentelle Studier, fuldtud har kunnet yde det endelige Bevis for Arten af Blodpladernes Oprindelse.

Medens Blodpladernes Eksistens i det cirkulerende Blod benægtes af nogle, betragter Flertallet af Undersøgerne dem som morfologisk velkarakteriserede Elementer, der præeksisterer intravaskulært. Svarende hertil benævnes Blodpladerne ofte Blodets tredie Formelement.

Som Følge af visse Ejendommeligheder ved Blodpladernes Morfologi og Forhold i og udenfor Organismen indtager disse Elementer imidlertid en Særstilling, ikke alene blandt Blodets, men ogsaa blandt Organismens Cellesystemer.

Igennem Tiderne har man søgt Ophavet til Blodpladerne saavel mellem humorale som corpuskulære Blodbestanddele, samt i visse extravaskulært lejrede Celler.

Ingen af de forskellige Teorier har imidlertid formaaet at hævde sig, som den af Wright i 1906 opstillede. Næsten for alle synes denne Hypothese paa fyldestgørende Maade at forklare de ejendommelige, smaa, kærneløse Legemers Derivation af de store Knoglemarvsceller.

Wrights Blodpladeteori er gennem Tiderne blevet gjort til Genstand for en Del Undersøgelser. Disse omfatter det histologiske Bevismateriale, samt de Iagttagelser, der har ladet sig anstille ved komparativ-anatomiske, embryologiske, kliniske og især experimentelle Studier.

Medens Teorien oprindelig blev fremsat væsentlig paa Grundlag af histologiske Undersøgelser af Materiale fra normale Dyr, har senere Undersøgere især ved Dyreexperimenter søgt at fremskaffe Beviser for Eksistensen af et numerisk Forhold mellem de to Formelementer.

Ganske naturligt maa de histologiske Fund betragtes som Hypothesens Hovedbevis, de øvrige Holdepunkter bør sammenfattes under Betegnelsen Hjælpebeviser.

Jeg skal i dette Arbejde beskæftige mig med Hovedbeviset og visse Sider af Hjælpebeviserne.

Undersøgelser af denne Art maa naturligt grænse op til mange Problemer indenfor Fysiologi, Histologi, almen Pathologi og klinisk Medicin. Det har derfor været forbundet med en Del Vanskelighed at undgaa nøjere at komme ind paa de mange Sidespørgsmaal, Emnet frister én til at tage op. Jeg har imidlertid søgt, saavel i Omtalen af tidligere gjorte Iagttagelser som ved mine Undersøgelser, kun at beskæftige mig med selve Wrights Blodpladeteori.

HISTORISK OVERSIGT

I det følgende vil blive refereret Arbejder, der helt eller delvis omhandler Wrights Blodpladeteori.

Hypothesen findes nutildags omtalt mange Steder. Det maa imidlertid anses for lige saa overflødigt som uoverkommeligt at ville opregne, hvad der i Lærebøger og Samleværker anføres herom, specielt da Omtalen af denne, som andre Blodpladeteorier, næsten altid bygger paa Citater fra Specialafhandlinger.

I Afhandlinger om højst forskellige Emner vil man kunne have Held til at finde Wrights Teori mere eller mindre udførligt omtalt. Der bygges i de fleste af disse Tilfælde videre paa det Grundlag, Hypothesen yder, og den drages kun frem til Belysning af Iagttagelser, man paa et eller andet Omraade har gjort.

Tilbage staar de ikke særlig mange Arbejder, der udelukkende, eller i hvert Fald i ret stor Udstrækning, tager Sigte paa Forholdene vedrørende Blodpladernes Opstaaen af Megakaryocyterne og derved direkte bidrager til Belysning af Wrights Hypothese.

Nogle har heri gjort flere eller færre Sider af Teoriens Grundlag til Genstand for Undersøgelse. Andre har søgt Bevismaterialet for og imod forøget gennem Experimenter eller ved Erfaringer indvundet ad klinisk Vej. Yderligere har en Del undersøgt Megakaryocyternes Morfologi og Funktion eller Blodpladernes Regenerationsforhold og er saaledes ogsaa kommet ind paa den af Wright fremsatte Hypothese.

Hovedmængden af de Histologer og Experimentatorer, der har beskæftiget sig med Wrights Teori, mener at have kunnet bekræfte denne, og kun et Mindretal vil kunne regnes for direkte Modstandere deraf.

I Samleværkerne indtager Forfatterne noget divergerende Standpunkter. Medens *Naegeli* saaledes i sin Lærebog (Udg. 1923, p. 184) fuldtud deler Wrights Opfattelse, anser *Jolly* i sin nylig udkomne Hæmatologi (1924 p. 393) Spørgsmaalet om Blodpladernes Genese for uløst.

Til en Begyndelse skal jeg referere den af Wright opstillede Hypothese paa Grundlag af dennes Meddelelser fra 1906 og 1910.

Dernæst vil følge en Opregning af de Forfattere der, uanset de benyttede Arbejdsmetoder, efter selvstændige Undersøgelser enten har haft til Hensigt at yde Bidrag til Teoriens Bekræftelse, eller hvis Undersøgelsesresultater stemmer overens med Hypothesen.

Hertil føjer jeg en kort Omtale af de Resultater, disse er naaet til.

Til Slut sammenstilles Modstanderne af Teorien medsamt deres Argumenter.

WRIGHTS BLODPLADETEORI.

Alle Blodplader er løsnede Protoplasmadele af Megakaryocyter. For at disse Knoglemarvens største, azurofilt granulerede Celler skal kunne danne Blodplader, maa de have naaet en vis Størrelse og Udviklingsgrad. Megakaryocyterne skal tillige være beliggende umiddelbart opad de tyndvæggede Kar for herved at muliggøre hurtig Videretransport af de dannede Smaalegemer.

Forud for Modercellernes Afgift af Blodplader gaar en Gruppering af deres Granula, hvorved opstaar lidt uregelmæssige, runde, ovale eller aflange Hobe, der indbyrdes holdes adskilt af ensartede, »hyaline«, ugranulerede Strøg. Ved Deling i disse Protoplasmapartier frigøres Granulagrupperne. Saaledes opstaar Legemer med et centralt beliggende, kornet Parti og en perifer »hyalin« Zone, som synes fuldstændig identiske med de i Kredsløbet forekommende Blodplader. Denne Afgift kan forløbe under lidt varierende Former, idet smaa Prominenser afsnøres enten fra selve Megakaryocyten eller fra pseudopodieagtige Protoplasmaforlængelser. Blodpladerne kan undertiden ogsaa opstaa ved Segmentering af tynde Pseudopodier, hvis Forbindelse med Megakaryocyten allerede er gaaet tabt.

Paa den ovenfor beskrevne Maade afgiver Megakaryocyterne alt sit Protoplasma.

Kærnerne, der degenererer, føres ofte til Lungerne, hvor de opfanges i Kapillærerne. Efter Wrights Mening er Megakaryocyternes og Blodpladernes Granula identiske baade med Hensyn til Størrelse, Form, Farvning og Anordning. Der findes kun den Forskel paa Granulagrupperne de to Steder, at de i Megakaryocyterne holdes sammen af det »hyaline« Protoplasma med andre lignende Grupper, medens Blodpladerne er isolerede Granulagrupper.

Som yderligere Støtte for den paa histologiske Fund byggende Teori fremfører Wright Iagttagelser, hentet fra forskellige Omraader.

Det tages saaledes som Bevis for en vital Aktivitet hos Megakaryocyterne, naar disse Knoglemarvsceller ved passende Forsøgsanordning udsender og retraherer Pseudopodier. Svarende hertil har tidligere Undersøgere hos Blodplader iagttaget Evne til at udføre Bevægelser af noget lignende Art *(Deetjen)*.

Den talmæssige Overensstemmelse, der synes at være mellem Megakaryocyter og Blodplader, tyder endvidere paa, at der findes et Afhængighedsforhold mellem de to Formelementer. Er saaledes Blodpladernes Antal forøget eller formindsket ved visse Sygdomme (perniciøs Anæmi og myeloisk Leukæmi), viser Megakaryocyternes Antal sig samtidig hermed at være til- eller aftaget.

Hos Fugle og laverestaaende Dyrearter mangler baade Megakaryocyter og Blodplader, ligesom man i Føtallivet hos Pattedyr først ser Blodplader optræde i Cirkulationen, efter at Megakaryocyter har vist sig i de hæmatopoietiske Organer.

TEORIENS TILHÆNGERE.*)

Bunting (1909) eftergør og bekræfter, som den første, Wrights histologiske Fund. Forskellige Experimenter viser Megakaryocyters og Blodpladers synkrone Svingninger.

Ved Hodgkins Sygdom iagttager Bunting (1911) alle Tegn paa

*) At Megakaryocyter besidder Evne til at danne Blodplader, har allerede *Kuborn* (1890) ment at kunne paavise i Leverne hos 3—4 cm. lange Fostre. Det er blevet beskrevet, hvorledes der i Megakaryocyterne opstaar sphæriske (hæmoglobinholdige!) Legemer. Disse frigøres ved, at det omsluttende Protoplasma viger til Side, hvorved Blodplader kommer i Cirkulation.

stor Aktivitet fra det blodpladedannende Systems Side. Blodpladernes Antal er saaledes herved kendelig forøget, ligesom Megakaryocyterne ofte er meget rigeligt tilstede.

Benda (1910) anerkender de Wrightske Fund.

Darling (1911) ser ogsaa i Kliniken, at en Af- eller Tiltagen af Blodpladerne falder sammen med Forandringer i Megakaryocyternes Antal.

Schridde (1907) paaviser i mange af Menneskets Megakaryocyter regelmæssig Granulagruppering, »Felderung«, der er stærkest udtalt perifert. Wrights Fund lader sig imidlertid paa daværende Tidspunkt ikke bekræfte.

I 1911 forelægges en midlertidig Meddelelse om de af *Schridde* og *Ogata* anstillede Undersøgelser (udført paa Aschoffs Laboratorium). Af denne fremgaar det, at Wrights Fund og Opfattelse nu fuldtud har ladet sig bekræfte. I en paafølgende Diskussion meddeler *Keibel*, at han har kunnet eftergøre Wrights Undersøgelser, ligesom *Aschoff* slutter sig til Teorien, bl. a. fordi Megakaryocyternes Pseudopodier og Blodplader har ladet sig farve ens.

Weidenreich tager i *1912* sin tidligere opstillede Teori om Blodpladernes Oprindelse af Erythrocytmembranerne tilbage og deler nu Wrights Opfattelse.

Ogata (1912) bekræfter Wrights histologiske Fund ved Undersøgelse af normale Kaniner samt disses Fostre. Ved Forsøg bl. a. med Blødningsanæmi ses samtidig med Blodpladeforøgelse en paafaldende Tiltagen af Megakaryocyternes Antal. Svarende til de høje Blodpladetal ved myeloisk Leukæmi træffes store Mængder Megakaryocyter i Lever og Nyrer.

I et andet Arbejde (1912) beskæftiger Ogata sig med Megakaryocyternes Overgang til Blodet. Lungekapillærerne indeholder altid nøgne pyknotiske Megakaryocytkærner. Ved Anæmisering gaar, som Tegn paa øget Blodpladedannelse, mange Megakaryocyter over i Blodbanen.

Klein (1913) finder, at Megakaryocyternes væsentligste Funktion saavel hos Mennesker som Dyr bestaar i Dannelsen af Blodplader. For at lette Afgiften heraf gaar normalt Megakaryocyterne over i Cirkulationen; under pathologiske Tilstande er denne Emigration særlig stærk.

Brown (1913) regner under normale Forhold Megakaryocyterne

for at være eneste Kilde til Blodpladerne. Efter Injektion bl. a. af Saponin tillægger han derimod Endothelcellerne stor blodpladedannende Funktion. *Seeliger* imødegaar i 1923 denne Opfattelse.

Downey (1913) følger alle Faserne i Blodpladedannelsen. Da kun Megakaryocyterne indeholder samme Slags Granula som Blodpladerne, maa de anses for at være eneste Ophav til disse.

Le Sourd og *Pagniez (1913)* finder, at de Wrightske Figurers Bygning er i Overensstemmelse med de tidligere givne Beskrivelser. Afsnøringsprodukterne svarer dog kun til de største af de frit cirkulerende Blodplader. Da Figurerne alene ikke synes fyldestgørende at kunne forklare Blodpladernes Genese, anstilles Forsøg. Ved Injektion af antithrombocytisk Serum øges saavel Megakaryocyternes som Blodpladernes Antal stærkt. Megakaryocyter synes tillige i Opslemning at besidde de samme Egenskaber som Blodplader.

Naegeli (1914) paaviser Megakaryocyter i det cirkulerende Blod ved myeloisk Leukæmi og andre sygelige Processer. Herved anvises en ny Vej til at efterprøve Wrights Teori. Der gør sig imidlertid visse Uoverensstemmelser gældende mellem Megakaryocyternes og Blodpladernes Granula. Efter Paavisningen af Overgangsformer føler Naegeli sig dog berettiget til at antage Hypothesen, omend yderligere Beviser bør anses for paakrævet.

Oelhafen (1914) er Elev af Naegeli og deler i det væsentlige dennes Opfattelse. Ogsaa for ham er det muligt at finde Wrightske Figurer i Udstrygningspræparater.

Ferrata og *Negreiros-Rinaldi (1915)* beskæftiger sig i et større Arbejde bl. a. med Forholdet mellem Megakaryocyter og Blodplader baade hos normale Individer, ved experimentelt fremkaldt Blodpladeforøgelse og under Forløbet af forskellige pathologiske Tilstande. Svarende til Blodpladeforøgelsen tiltager de Wrightske Figurers Antal i de hæmatopoietiske Organer. Det bekræftes endvidere, at Blodplader hos Fostre i den hepatiske Periode optræder samtidig med granulerede Megakaryocyter. Hos Fostrene synes det imidlertid, som om ogsaa andre Celler bidrager til Blodpladedannelsen.

Cesaris Demel (1914, 1915, 1919) finder hos normale Dyr og ved Experimenter alle de af Wright beskrevne Faser i Blodpladedannelsen. Han omtaler mosaiklignende Granulagruppering i Megakaryocy-

terne, følger de uregelmæssige Cellefigurer fra Snit til Snit samt iagttager Cellernes Overgang til Karrene. I 1924 viser Cesaris Demel, hvorledes der lader sig se en Parallelisme mellem Blodpladernes og de Wrightske Figurers Antal i Snitpræparater af Milt, der stammer fra Kattekillinger, som langsomt er blevet kvalt med Belysningsgas. Han mener, at den gængse Opfattelse af Blodpladedifferentiationen bør modificeres. Denne Proces er ikke Udtryk for en direkte Cellefunktion, men har delvis sin Oprindelse i Blodplasmaudfældninger.

Foà (1915) genoptager sine tidligere anstillede Undersøgelser (1910, 1912) og yder derved nye Bidrag til Wrights Teori. Saavel hos normale Dyr som ved Experimenter ses Granulagruppering i Megakaryocyter og ved disses Periferi Løsrivning af blodpladelignende Legemer.

Frank (1915, 1916) anfører, hvorledes Iagttagelser fra Kliniken (aplastisk Anæmi, akut Leukæmi og Benzolforgiftning) samt ved Experimenter (Benzolinjektion) fuldtud stemmer overens med Wrights Teori. Derimod er det forbundet med visse Vanskeligheder at forklare Megakaryocyternes Forhold ved konstitutionel Purpura. Frank mener, at sygelig Formindskelse af Blodpladetallet beror paa Hormonsekretion (i Milten), hvorved Megakaryocyternes blodpladedannende Funktion bliver hindret (»splenogen Myelotoxikose«).

Di Guglielmo offentliggør i et større Antal Arbejder (1916—1923) sine Undersøgelser over Blodpladerne og Megakaryocyterne samt disse Cellers Forhold til og i Cirkulationen specielt ved Blodsygdomme. I Udstrygningspræparater lader der sig se alle Stadier i Megakaryocyternes Udfoldelse af den blodpladedannende Funktion. Han opstiller Begrebet »Megakaryocytose«, et Symptom, der optræder baade ved forskellige Lidelser og experimentelt fremkaldte Tilstande. Fremdeles individualiseres Blodbilledet »Piastrinæmi«. Der forstaas herved Tilstedeværelse i Cirkulationen baade af Blodplader i forskellige Størrelser og disses Ophav i forskellige Udviklingstrin: ugranulerede Megakaryocyter og Wrightske Figurer.

Kaznelson (1917) supplerer Naegelis (og Oelhafens) Undersøgelser (af Megakaryocyter i Cirkulationen), idet han ligesom Di Guglielmo finder Wrightske Figurer i Blodet og dermed tillige viser, at Blodpladedannelsen ogsaa kan foregaa intravaskulært.

Ferrata ændrer i 2. Udgave af sin Hæmotologi (1918) sin Opfattelse af Blodpladernes Genese til Fordel for Wrights Teori.

Gazzette (1918) nævnes som Tilhænger af Wrights Teori.

Kirsch (1919) fandt i en Patients Blod mange pseudopodieagtige Kæmpeblodplader samt øget Blodpladetal. Han sætter dette Fund i Forbindelse med en Forøgelse af Knoglemarvsfunktionen.

Fonio (1918) finder ved svær secundær Anæmi (med normalt Blodpladetal!) pseudopodielignende Kæmpeblodplader, der i Struktur, Farvning og Granulering viser Overensstemmelse med normale Blodplader. Han antager, at disse er abnormt store Megakaryocytafsnøringsprodukter, et Tegn paa øget Funktion.

Castronuovo (1920) antager Wrights Teori med det Forbehold, at ogsaa andre Celler kan danne Blodplader. I Snitpræparater lader Blodplader sig let differentiere som Følge af disses ensartede Udseende.

Degkwitz (1920) undersøger i Udstrygningspræparater Blodpladernes Morfologi og Antal bl. a. ved Blødningsanæmier. De herved fundne Kæmpeblodplader maa, efter Sammenligning med Wrights Mikrofotografier, anses for at være afsnørede Megakaryocytpseudopodier. Omend Wrights Teori bedre end andre synes at forklare mange Forhold indenfor Fysiologien og Pathologien, bør meget endnu søges klarlagt ved denne. Adskilligt tyder dog paa, at man snarere staar overfor en regelmæssig Blodpladedannelse end et uregelmæssigt Cellehenfald.

Bender nævnes af Degkwitz som Tilhænger af Wright-Teorien.

Kuczynski (1921) ser (hos Mus) Megakaryocyter i Færd med at afsnøre (secernere!) saavel større som mindre Protoplasmadele, med hvilke Blodpladerne viser fuld Identitet. Plasmaceller skal tillige kunne afgive blodpladelignende Legemer.

Wittkower (1921) fremkalder ved at følge *Heinz'* Angivelser (Injektion af Elektroferrol) en Hyperaktivitet af Megakaryocyter i Knoglemarven og Optræden af Wrightske Figurer i Cirkulationen samtidig med, at Blodpladerne øges stærkt i Antal.

Woodcock (1921) betragter Megakaryocyterne som Fagocyter, der af de optagne Cellebestanddele danner Blodplader.

Firket anstiller dels sammen med *Souza Campos (1921, 1922)*, dels alene *(1922)*, Experimenter in vitro og in vivo med Saponin og med Defibrinering af Forsøgsdyrenes Blod. Der lader sig saaledes se en Parallelisme mellem Blodpladetallene under Regenerationen og Megakaryocyternes Mængde i og udenfor Knoglemarven. Kliniske Tilfælde, der tilsyneladende er i Modstrid med Wrights Hypothese, søger Firket at forklare udfra de af ham indvundne Erfaringer. Firket omtaler Muligheden af, at visse Faktorer kan virke hæmmende paa Megakaryocyternes Udvikling.

Fabricius-Møller (1922) paaviser Parallelisme mellem Megakaryocyternes og Blodpladernes Antal hos Marsvin efter Røntgenbestraaling.

Klaschen (1922) fremkalder i Milten hos Mus ved Injektion bl. a. af Caseosan og Pyrodin en »gigantocellulær Reaktion«. Herved skabes særlig gode Betingelser for en Bekræftelse af Wrights Teori.

Steinbrinck (1922) mener, at Blodplademanglen ved Morb. mac. Werlhofi beror paa Insufficiens af Blodpladestamcellerne (ɔ: Megakaryocyterne).

Reitano (1921), *Minot (1922)* og *Ricci (1922)* finder ved Blodsygdomme mange Megakaryocyter i Kredsløbet, samt ser Tegn paa, at der udfoldes forceret Blodpladedannelse. I Milten fra et Tilfælde af myeloisk Leukæmi har Reitano fundet Billeder, som ligner de af Wright beskrevne.

Rosenthal og *Falkenhain (1922)* viser ved serologiske Undersøgelser, at Blodpladerne nærmest er beslægtet med Leukocyterne. Saadanne Iagttagelser støtter Wrights Teori, idet Megakaryocyterne maa henføres til denne Cellegruppe.

Sabin (1923) kan ved Vitalfarvning af friskt Blod (ved 37°) i Blodpladerne farve 2 Slags Granula, i Megakaryocyterne derimod kun een Slags. Ved Fragmentation af Megakaryocyternes Protoplasma opstaar typiske Blodplader. Metoden anbefales til Eftersøgning af Megakaryocyter i Cirkulationen.

Seeliger (1923) kan saavel i normale som pathologiske hæmatopoietiske Organer følge Blodpladegenesens forskellige Trin i Overensstemmelse med den af Wright givne Beskrivelse. Ved Peptoninjektion

lader der sig føre pathologisk-fysiologisk Bevis for Blodpladernes Opstaaelsesmaade, idet dette Stof øger Blodpladedannelsen.

Komocki (1924) anerkender Wrights Teori, men mener, at ogsaa andre Celler kan danne Blodplader. Samtlige Celler reduceres ved Blodpladeafgiften til større eller mindre, mørkkærnede, lymfoide Former.

TEORIENS MODSTANDERE.

Saccerdotti (1908) fremhæver, at de Argumenter, der er blevet fremført for Wrights Teori, vil kunne underkastes Diskussion.

Schilling-Torgau, der i *1911* opstiller den Hypothese, at Blodpladerne er modificerede, løsnede Erythrocytkærner, har ogsaa direkte beskæftiget sig med Wrights Teori. Medens Schilling oprindelig ikke har kunnet finde utvivlsomme Wrightske Figurer, lykkes dette ham dog senere (1913). Blodpladerne ligner Megakaryocytprotoplasmaet, men der findes ingen Identitet mellem Blodpladerne og Megakaryocyternes ret vilkaarlige Afsnøringsprodukter. Normale Blodplader er efter Wrights Beskrivelse af forskellig Størrelse; Schilling mener, at disse undertiden er rigeligt store i Sammenligning med de pathologiske Former. Blodpladelignende Protoplasmapartikler dannes fremdeles meget let af andre Celler. Teorien maa derfor anses for histologisk utilstrækkeligt begrundet.

I umiddelbar Tilslutning til kortvarige Intoxikationer finder der en stærk Blodpladedannelse Sted. Derimod maa man antage, at Forøgelse af Megakaryocyternes Antal og Afgiften af Protoplasma maa kræve meget længere Tid. Den Parallelisme, Wright beskriver, har kun secundær Beviskraft.

Hanser (1913) deler Schillings Opfattelse med Hensyn til Wrights Teori. Naar Wright beskriver Blodplader af forskellig Størrelse, tillader dette alt for stort Spillerum. De af Wright gjorte Iagttagelser hos koldblodede Dyr og Pattedyrsfostre er ret hypothetiske.

Pappenheim tilføjer til et Referat af Ogatas Arbejde *(1912)*: »Ved Bekræftelse af Wrights Blodpladeteori vilde Blodpladerne blive berøvet deres »azurofile« Granula, thi efter Schridde indeholder Megakaryocyter hos de forskellige Dyr »neutrofile Granula«.«

Foti (1913) iagttager ved Injektion af Pyrodin Parallelisme mellem Destruktionen af Erythrocyter og Forøgelse af Blodplader.

Winogradow (1914) mener ikke, at Blodplader har nogen Forbindelse med Megakaryocyter, da det maa anses for ubevist, at Blodpladernes og Megakaryocyternes Antal øges parallelt.

Pianese (1920) formaar ved Experimenter lige saa lidt at paavise nogen Parallelisme mellem Megakaryocyternes og Blodpladernes Antal som nogen Forøgelse af de Wrightske Figurers Mængde. Han mener, at Blodplader kan dannes i dobbelt underbundne Kar, hvilket svarer til hans Opfattelse af, at Blodplader opstaar af Blodplasma (*Wooldridges* Teori).

Perroncito (1920, 1921) anser de anatomiske og embryologiske Fund, der er blevet fremført til Støtte for Wrights Teori, for utilstrækkelige. Disse lader sig lige saa godt forklare som Udtryk for Adhæsion og Fagocytose. Paa Grundlag af flere Forsøgsrækker lykkes det ikke at bevise Wright-Teoriens Rigtighed. Fremkomsten af et stort Blodpladetal ledsages aldrig af en Forøgelse af de Wrightske Figurers Antal. Blodpladernes Regeneration foregaar i selve Blodet, idet Perroncito mener, at Blodplader er i Stand til at formere sig.

Marchesini (1920, 1921, 1922) er Tilhænger af Teorien om Blodpladernes Opstaaen af Erythrocyter. Han frakender Megakaryocyterne blodpladedannende Funktion og tillægger Cellerne fagocyterende Evne; Megakaryocyternes Optræden i Cirkulationen staar i Forbindelse hermed. Den Granulagruppering, der ses i Megakaryocyterne, opstaar ved Fagocytering af Erythrocyter.

Cesa-Bianchi (1921) beskriver meget udførligt et Tilfælde af Splenomegalia myeloica aleucæmica. Blodpladerne er tilsyneladende normale i Antal og Form. I Milten findes en betydelig megakaryocytisk Omdannelse; der lader sig imidlertid aldrig paavise Wrightske Figurer.

Zannini (1921) finder ved enkelte pathologiske Tilstande blodpladelignende Elementer i Megakaryocyternes Protoplasma. Det drejer sig snarere om Fagocytose end Blodpladedannelse.

Erede (1921) benægter paa Grundlag af Undersøgelser af gravide Dyr Wrights Teori. Megakaryocyter kan i hvert Fald ikke alene være Ophav til Blodpladerne. Tiltagen af Blodpladernes Antal

ledsages ikke af en tilsvarende Forøgelse af Megakaryocyternes blodpladedannende Funktion. Ved Experimenter lader Megakaryocyternes Antal sig aldrig forøge. Grupperingsfænomener i Megakaryocyterne er Tegn paa Involution.

Godlewski (1922) nævnes (cit. Firket 1922) som Modstander af Wrights Teori.

Foruden de ovenforomtalte Iagttagelser skal jeg referere et Par Meddelelser om visse kliniske Tilfælde, hvor de postmortelle Fund ikke synes at være i Overensstemmelse med Wrights Teori.

Trembur (1909) ser hos et Barn, død af Hæmofili, normalt Antal af Megakaryocyter i Knoglemarven.

Kaznelson (1919, p. 140, Fodnoten) har undersøgt et Par Tilfælde af perniciøs Anæmi. I det ene fandtes mange Blodplader i Milten, i det andet fandtes i Knoglemarven flere Megakaryocyter end normalt, skønt Blodpladetallet havde været meget lavt.

Foerster (1921) meddeler Tilfælde af Mb. mac. Werlh. med lave Blodpladetal. Ved Sektion af eet af disse fandtes mange Megakaryocyter i Femur, derimod ingen Blodplader.

Dersom 2 af *Firket (1922)* meddelte kliniske Tilfælde ikke vil kunne forklares paa den af ham nævnte Maade, vil de føje sig til Beviserne mod Wrights Teori.

OM DEN TIL DE HISTOLOGISKE UNDERSØGELSER ANVENDTE TEKNIK

WRIGHTS GRANULAFARVEMETODE.

Det Grundlag, hvorpaa Teorien om Blodpladernes Oprindelse af Megakaryocyter er baseret, dannes af histologiske Billeder, som første Gang er blevet iagttaget af Wright ved Benyttelse af den af ham angivne Teknik til Farvning af Snitpræparater fra hæmatopoietiske Organer.

Den Overensstemmelse, der herved har ladet sig paavise mellem Megakaryocyternes og Blodpladernes Bygning og Farvning, har senere Undersøgere prøvet at bringe til at træde frem ved Benyttelse af andre Metoder. Det synes imidlertid, som om man kun ved Anvendelse af Wrights Fremgangsmaade vil have Mulighed for at faa elektiv Farvning.

Denne Metode har dannet Udgangspunkt for mine farvetekniske Undersøgelser, idet jeg har søgt at drage Nytte af det tilgrundliggende Princip. I skematisk Form skal den derfor anføres i det følgende.

Materiale: legemsvarm Knoglemarv (og Milt) fra Kattekillinger.

Fixation: Metylalkohol, Formalin eller mættet Sublimatopløsning (i 0,9 % NaCl Opl.).

Afvanding: Alkohol; Aceton.

Klaring: Cederolie; Xylol.

Paraffinsnit: højst 4 μ tykke; Sublimatkrystaller fjernes med Grams Jod-Jodkaliumopl. og Alkohol. Opklæbning paa Objektglas med Mayers Glycerin-Albumen Blanding.

Farvning: Wrights Variation paa Romanowsky' Farvevæske (1902) og destilleret Vand i lige Dele, i ca. 10 Minutter. Tiden varieres efter hver Farvevæske-Opløsning.

Afvanding: ren Aceton.
Klaring: ren Terpentinolie.
Indlejring: tyk Terpentinolie-Colofonium.

Medens de ved denne Fremgangsmaade vundne Resultater er blevet anerkendt viden om, har selve Tekniken imidlertid kun fundet meget ringe Udbredelse. Siden 1913 synes den overhovedet ikke at være blevet anvendt, skønt Antallet af de Undersøgere, der siden da har beskæftiget sig med Wrights Teori, stadig har været tiltagende.

Aarsagerne hertil maa formodes at have været forskellige.

Et vist Antal Undersøgere har overhovedet ikke fundet det nødvendigt at foretage en Efterprøvelse af de finere Detailler ved de Wrightske Figurers Farvning og Morfologi, idet man har ment, at disse ikke kunde drages i Tvivl.

Paa den anden Side har i de senere Aar Megakaryocyternes intravaskulære Forekomst og derigennem Muligheden for en extramedullær Blodpladedannelse taget Opmærksomheden stærkt fangen. Herved er ganske naturligt Undersøgelse i Blodudstrygningspræparat traadt stærkt i Forgrunden som Arbejdsmetode.

Den væsentligste Grund synes imidlertid at have været, at Forsøg paa at benytte Wrights Teknik er faldet uheldigt ud for de fleste. Dette er forstaaeligt, naar man betragter den Unøjagtighed i Angivelse, som gør sig gældende ved denne, som ved saa mange andre Granulafarvemetoder. Hertil kommer visse Uoverensstemmelser i Forskrifterne, saaledes som de fremtræder i de forskellige Meddelelser. Det er derfor naturligt, at kun tre Undersøgere, *Bunting* (1909), *Downey* (1913) og *Brown* (1913) hidtil har haft nogenlunde Held til at eftergøre Teoriens histologiske Grundlag ved Benyttelse af Wrights Teknik.

Med en Efterprøvelse af Wrights Teknik for Øje, har jeg gennemgaaet de Resultater, ovennævnte tre Undersøgere i saa Henseende har opnaaet. Herigennem har jeg søgt at danne mig et Skøn over, hvilken af de Variationer, som Metoden tillader, det vil være mest lønnende at betjene sig af.

Baade Downey og Brown erkender, hvor upræcist og uensartet Metoden er angivet. Førstnævnte mener det dog muligt til Trods for den betydelige Elasticitet, Metoden rummer, at kunne opnaa tilfreds-

stillende Resultater, dersom Forskrifterne følges i alle Detailler. I Modsætning hertil prøver Brown at tilvejebringe større Ensartethed i Angivelserne for dermed at øge Sikkerheden i Metodens Brug.

Fixationsspørgsmaalet synes indgaaende at være blevet behandlet af dem alle tre. I Overensstemmelse med Wright finder *Bunting*, at Farvningen falder mindre heldigt ud efter Metylalkoholfixering. Han anser derfor, ligesom *Brown* og *Downey*, Sublimat for det bedste Fixationsmiddel. Herved adskiller de sig alle tre fra Wright, idet denne giver Formalin Fortrinet. Skal imidlertid de finere Detailler i Lymfocyter og Myelocyter kunne bringes til at træde frem, kræves efter *Downeys* Mening den af ham angivne Formalin-Sublimat-Opløsning.

De ovenfornævnte Angivelser forflygtiges derimod noget, naar *Brown* senerehen meddeler, at han iøvrigt faar gode Resultater med næsten alle Fixationsmidler og anbefaler bl. a. Metylalkohol.

Dette maa tages som et yderligere Bevis for, hvor vanskeligt Metoden lader sig anvende med gunstigt Resultat.

Ved Sammenligning med mine senere anstillede Undersøgelser, er det af Interesse at se, hvilken Opfattelse der er blevet gjort gældende m. H. t. de chromholdige Væskers Brugbarhed.

Downey finder saaledes, i Modsætning til *Wright*, at Zenkers Væske er anvendelig til Megakaryocytfarvning, men uegnet til Blodpladerne. Baade med Orths og Zenkers Væske faar *Brown* velbevarede og velfarvede Granula i begge Elementer.

Wrights vage Farvningsangivelser søger *Brown* afhjulpet ved at gennemprøve forskellige Fortyndinger af Farveopløsningen, forskelligt Blandingsforhold mellem polychrom Metylenblaat og Eosin, samt vekslende Farvningstider, alt eftersom den ene eller anden Fixationsmetode er benyttet. Særligt Held synes han dog ikke at have haft, idet han ender med at anbefale Wrights Sublimatfixering til Schriddes Farvemetode.

OM FIXATIONSFORSØGENE.

Efter at have stiftet Bekendtskab med tidligere Undersøgeres Erfaringer over Wrights Teknik, fandt jeg det meget usikkert, om Me-

toden overhovedet vilde lade sig anvende. De Variationsmuligheder, Fremgangsmaaden fra første Færd rummede, var blevet kendelig forøgede, uden at Chancerne for at naa et gunstigt Resultat samtidig var blevet større. Jeg havde intet Fingerpeg faaet m. H. t. i hvilken Retning, det vilde lønne sig at gaa, dersom Wrights Teknik skulde bringes til Anvendelse. Valget kom saaledes for mig til at staa mellem to Fremgangsmaader.

Enten skulde jeg, ligesom saa mange andre havde gjort, straks vige udenom de Vanskeligheder, Wrights Farveteknik kunde ventes at berede én, eller ogsaa maatte jeg fra første Færd søge at trænge igennem de Problemer, den nævnte Metode rummede.

I førstnævnte Tilfælde vilde jeg være nødsaget til at anvende en fra Wrights Angivelser mere eller mindre fjern Fremgangsmaade.

Skulde jeg imidlertid kunne vente at gennemføre en nøje Revision af Wright-Teoriens histologiske Grundlag, maatte dette ske ved Benyttelse af en lignende Teknik, som den, Wright har anvendt. Alene herigennem vilde jeg have Mulighed for fuldtud at kunne skabe de samme ydre Betingelser som de, hvorunder Wright havde anstillet sine Iagttagelser.

Det sidste Alternativ valgtes, idet jeg som Maal satte mig:

at søge Wrights Metode eftergjort samt i bekræftende Fald prøve, hvilken af de angivne Variationer der bedst lod sig anvende.

Jeg haabede tillige at kunne udfinde, hvori Aarsagen laa til, at saa mange tidligere Undersøgere ikke har formaaet at benytte Metoden. Herigennem vilde jeg dels kunne øve en vis Kontrol med selve Metoden, dels haabe paa at tilvejebringe mere Fasthed i Angivelsen.

Dersom ovenanførte Plan glippede, agtede jeg, ud fra det Wrightske Farvningsprincip, at forsøge, om en Metode lod sig angive til sikker elektiv Megakaryocyt- og Blodpladefarvning i Snitpræparater samtidig med, at de andre Marvelementer fremtraadte paa karakteristisk Maade.

Som Følge af det yderst ringe Kendskab, jeg paa daværende Tidspunkt besad til Afhængighedsforholdet mellem Fixation og Farvning i det foreliggende Tilfælde, maatte Undersøgelserne herover nødvendigvis forløbe nogenlunde jævnsides. Forsøg paa at udfinde Fixatio-

nens Betydning blev derved besværet af farvetekniske Vanskeligheder og omvendt. I det hele taget virkede det højst generende samtidig at maatte arbejde med to varierende Faktorer. Oplysninger, der syntes at kunne føre til Forbedringer, lod sig herved ofte først sent henføre til den ene eller den anden Faktors Indflydelse. Ukontrollerbare Ændringer i Fremgangsmaaden vanskeliggjorde ofte Gentagelse af heldige Farvninger.

Af Hensyn til Overskueligheden skal i det følgende Undersøgelserne over Fixation og Farvning omtales hver for sig.

De opnaaede Resultater er fremkommet ved, at jeg adskillige Gange systematisk har gennemprøvet de Fixations- og Farvningsmuligheder, der fandtes indenfor den givne Ramme.

OM DEN TIL MINE FIXATIONSFORSØG ANVENDTE FREMGANGSMAADE.

Materialet har været Knoglemarv fra unge Kaniner og Kattekillinger. Vævet er fixeret legemsvarmt; der er dels prøvet Udvanding i rindende Vand, dels er Knoglemarvsstykkerne direkte overført til Alkohol. Afvandingen er foretaget baade efter det paa Laboratoriet sædvanlig benyttede Princip: (Alkohol 70%—96% — 99%) og derpaa Klaring i Xylol, dels efter den af Wright anbefalede Fremgangsmaade (Afvanding i Alkohol og Aceton samt Klaring i Cederolie og Xylol). De 4 μ tykke Paraffinsnit er opklæbet med Æggehvideglycerin.

Som Middel til at skønne over Anvendeligheden af de forskellige Fixationsvæsker benyttede jeg Farvning i 15 Minutter med selvfremstillet Wright-Farveopløsning (Opskriften 1902, se p. 43) fortyndet med destilleret Vand i Forholdet 1 + 1. Viderebehandlingen var den af Wright angivne.

Metylalkohol er af Wright udelukkende blevet benyttet til Fixation af de Præparater, der dannede Grundlaget for dennes tidligste Undersøgelser (1906). Væsken nævnes ogsaa i Wrights Afhandling i 1910, men bliver ikke anbefalet. Aarsagen hertil maa være, at der baade i og udenfor Megakaryocyterne synes at optræde Kunstprodukter efter Metylalkoholfixeringen. Dette Forhold lader sig mere eller mindre undgaa ved Benyttelse af Formalin og Sublimat.

Skønt jeg saaledes ikke følte mig videre opmuntret til at prøve Metylalkoholfixation, var det dog ret nærliggende at bringe det til Anvendelse overfor Vævsstykker, da denne Væske stadig finder

vidtstrakt Anvendelse overfor Udstrygningspræparater af Blod og bloddannende Organer.

Til Metylalkoholfixation prøvede jeg: Metylalkohol purissimus aceton- og syrefri), Metylalkohol purus (acetonholdig) og teknisk Metylalkohol (baade aceton- og syreholdig). Fixationstiderne vekslede fra 3—48 Timer.

Mikroskopi: I rødviolet, stærkt masket Væv var kun de eosinofile Celler elektivt farvede. Kærnerne var blaasorte, distinkte. Megakaryocyternes Protoplasma graaligt; Granula uskarpe, blaa-blaagraa, undertiden visende blaaviolet, sjældnere rødlig Farvetone.

Formalin (Sol. formaldehydi, 40 %) blev, dels som det almindelige Præparat, dels neutraliseret, anvendt i forskellige vandige Opløsninger (10—20 %); Fixationstiden var i alle Tilfældene 24 Timer. (Wright angiver, at Formalin ikke maa virke udover 48 Timer).

Mikroskopi: Samtlige Vævselementer farvedes lysere eller mørkere blaat. Intetsteds saa man i de færdige Præparater mindste Antydning af rød Granulafarvning i Megakaryocyterne. Disse Cellers Granula var derimod under Differentiering i Vand graarøde.

Til Sublimatfixation benyttede jeg dels Kogsaltsublimat (sml. Mallory og Wrights Teknik p. 150), dels almindelig vandig Opløsning (sml. Schmorls Teknik p. 27). Fixationstiderne varierede fra faa Timer til et Par Døgn.

Mikroskopi: Samtlige Vævselementer var perifert i Snittene rødlige, centralt blaa. Kun de eosinofile Granula var farvede.

En intermediær Zone, der nærmest dannede en Overgangslinie mellem de to andre, viste sig imidlertid at have særlig Interesse. Her fandtes Megakaryocyter med stærkt iøjnefaldende rubin-ceriserøde Granula. Disse var distinkte, ret regelmæssige, jævnt fordelt i Cellelegemet og undertiden af lidt forskellig Størrelse. Kærnerne var blaagraa, tydeligt differentierede. De ugranulerede Protoplasmapartier i Megakaryocyterne, som især var synlige perifert i Snittene, var graablaa.

Omend de sublimatfixerede Præparater lod meget tilbage at ønske spec. m. H. t. Differentiering af de mindre Cellers Granula, havde der dog paa et begrænset Parti ladet sig se Megakaryocyter, som viste

en Farvning, der var identisk med den af Wright fundne. Megakaryocyterne besad her en for Formaalet med mine senere Undersøgelser særlig heldig Egenskab. Hvorsomhelst i eller udenfor Knoglemarvskarrene, man traf Dele af Megakaryocytprotoplasma, gav disse sig straks tilkende ved den elektive Farvning. Dette Forhold bidrog den ensartede blaa Bundfarve, som Vævet besad, til at fremhæve. En Ulempe var det derimod, at kun et meget ringe Antal Megakaryocyter i hvert Snit lod sig farve paa den ønskede Maade.

Af Figurforklaringerne til *Downeys* Farvetavler fremgaar det tydeligt, at heller ikke for ham har det været muligt med Metoden at fremstille ensartede Præparater. Megakaryocyternes Granula er snart violette, snart dannebrogsrøde.

Ved at følge Wrights Forskrift er det altsaa hermed lykkedes mig i Snitpræparater at farve Megakaryocytgranula elektivt, idet der i visse Zoner af Snittene findes Celler, der viser fuld Overensstemmelse med de af Wright beskrevne og i Afhandlingen 1910 afbildede. Denne Iagttagelse stemmer overens med de af Bunting, Downey og Brown opnaaede Resultater. Til Farvning af Blodplader ses derimod intet.

Blandt de af Wright angivne Fixationsvæsker har Sublimat med efterfølgende Behandling med selvfremstillet Wright-Farveopløsning (Forskriften fra 1902) vist sig Metylalkohol og Formalin fuldstændig overlegen. Hermed slutter jeg mig til de ovenanførte tre Undersøgeres Opfattelse. I Modsætning til Wright finder jeg Formalin uanvendeligt.

Som Følge af dette Resultat ansaa jeg Wrights Snitfarvemetode for at være brugbar til mine forestaaende Undersøgelser, bl. a. over Megakaryocyternes Morfologi og tilsigtede nu i videst mulig Udstrækning at drage Nytte deraf.

Til min store Forbavselse blev Forhaabningerne i saa Henseende skuffet. Næppe var Skæring og Farvning af Præparaterne i større Stil paabegyndt, før en kendelig Forringelse af Granulafarvningen lod sig spore i de i den intermediære Zone lejrede Megakaryocyter.

Længe varede det ikke, før Præparatfarvningen viste sig ganske ubrugelig, skønt baade Farveopløsningen og Fremgangsmaaden

paa alle Punkter var den samme som før. Gentagne Fixationsforsøg mislykkedes, og det nylig vundne Terrain syntes saaledes fuldstændig at være gaaet tabt.

Omend mangt og meget paa Fixationens Omraade senere har forekommet mig overskueligt og ligetil, stod jeg ikke destomindre paa daværende Tidspunkt usikker i mine Formodninger om Aarsagen til de nævnte Vanskeligheder. Det blev nemlig nu et Spørgsmaal, om den Lunefuldhed, som Sublimatfixationen syntes at udvise, beroede paa den til Fixationen benyttede Væske, eller om Farvetekniken bar Skylden herfor.

Da Sublimat var det eneste af de omtalte tre Fixationsmidler, der havde muliggjort elektiv Megakaryocytfarvning, gennemprøvede jeg dette Stof nøjere. Fixationen blev foretaget i almindelig vandige Opløsninger eller i Kogsalt-Sublimatopløsninger af forskelligt procentisk Indhold. Fremdeles prøvedes Fixation ved vekslende Temperatur, i forskelligt Tidsrum og endelig med eller uden efterfølgende Udvanding.

Resultatet af disse Forsøg var, at det i Løbet af meget lang Tid, trods ihærdige Anstrængelser, kun lykkedes mig faa Gange at fremstille Præparater, der i det store og hele frembød Lighed med de oprindelig fremstillede.

Jeg blev opmærksom paa, at brugbare Præparater fremkom efter Fixation i de Væsker, der havde det største Sublimatindhold. Svarende hertil viste Kogsalt-Sublimatopløsning sig den almindelige vandige Opløsning overlegen. Undlod jeg Udvanding af Vævsstykkerne, viste Præparaterne Tendens til Overfarvning samt ringe Nuancering, selv naar Farvevæskens Indvirkningstid havde været kort.

Samtidig med, at ovenanførte Fixationsforsøg blev anstillet, bestræbte jeg mig for at udfinde, om Unøjagtigheder i Farvetekniken havde nogen Andel i, at brugbare Præparater saa sjældent saas. Med Hensyn til dette Spørgsmaal, skal jeg henvise til senere Omtale.

Forsøg paa at udfinde Aarsagen til Sublimatfixationens Overlegenhed førte ikke til noget Resultat.

Efter de i det foregaaende anstillede Undersøgelser kunde jeg fastslaa følgende:

Den af Wright angivne Metode til Fremstilling af elektiv Megakaryocytgranulafarvning lader sig kun meget vanskeligt eftergøre. Til Farvning af utvivlsomme Blodplader ses intet. At det forholdsvis hurtigt var lykkedes mig at opnaa temmelig gode Billeder, maa tilskrives et rent Held.

Efter denne Metode er brugbare Præparaters Optræden saa lunefuld, at de bliver Kuriosa. Fremgangsmaaden vil i det højeste kunne finde Anvendelse som Supplement til andre Undersøgelsesmetoder, derimod ikke som en praktisk anvendelig Arbejdsmetode.

Naar en Del Undersøgere ikke har kunnet benytte Metoden, maa dette tilskrives de upræcise Angivelser. Fra Wrights Haand savnes en grundig Efterprøvelse af de forskellige Faktorers Indflydelse. Hertil er kommet de Vanskeligheder, Selvfremstilling af en Farvevæske altid maa være forbundet med, samt den Tid, man har villet og kunnet ofre paa at gennemprøve Metoden.

Da jeg nødig vilde opgive Muligheden for at kunne farve Megakaryocytgranula elektivt i de Præparater, der skulde ligge til Grund for mine Undersøgelser, fortsatte jeg Fixations- og Farvningsforsøgene.

Omend Udsigterne til at naa en heldig Løsning langtfra var lyse, ansaa jeg det dog for at være i højeste Grad Umagen værd at koncentrere Anstrængelserne om dette Punkt.

Med Bibeholdelse af Wright-Metodens Fortrin søgte jeg nu at finde den Fixationsvæske, der sammen med en lidt ændret Farveteknik (se p. 43) kunde afhjælpe de ovenanførte Mangler ved Wrights Metode.

Til en Begyndelse kombinerede jeg de tre af Wright benyttede Fixationsvæsker i forskellige indbyrdes Forhold, idet de dog hver især i Wrights Haand havde givet brugbare Resultater.

De Væsker, hvori Sublimat indgik som Komponent, viste sig at være relativt bedst egnede. Alle var imidlertid mindre anvendelige end ren Kogsaltsublimatopløsning. Formalin, selv i Spor, bevirkede, at Farvningen faldt uheldigt ud.

Efter dette var det naturligt at forsøge andre Fixationsvæsker, hvori Sublimat indgaar som større eller mindre Bestanddel.

I dette Øjemed prøvede jeg Sublimat-Iseddike-destilleret Vand, Zenkers Væske, koncentreret Pikrinsyre-Kogsaltsublimat, Dominicis Væsker,*) Giemsas Alkoholsublimat, osmiumholdige Væskeblandinger samt Helly-Maximows Væske.

Af disse viste den sidstnævnte sig at være bedst og at besidde visse Fortrin fremfor rene Sublimatopløsninger. Snitfarvningen var ret ensartet, de smaa Knoglemarvcellers Granula fremtraadte ret tydeligt, og Megakaryocyterne var af og til elektivt farvede.

Da det tidligere havde vist sig, at Formalin hindrede Azurfarvning i at give sig tilkende, maatte jeg vente at kunne opnaa en yderligere Forbedring ved i Helly-Maximow-Væsken at undlade Formalintilsætning.

I de Præparater, jeg derfor fixerede i Müllers Væske med 5 % Sublimatindhold, var ikke alene Farvningen af de smaa Cellers Granula som ovenfor nævnt, men Megakaryocytgranulafarvningen bedre.

Det vil være forstaaeligt, at jeg paa Grundlag af disse Undersøgelser prøvede at slaa Bro mellem de Fordele, som paa den ene Side Fixation i Sublimat, paa den anden Side Hellys Væske (÷ Formalin) syntes at frembyde. Sublimat havde dog gjort Indtryk af at være den fælles og vigtigste Komponent. Jeg haabede et Sted derimellem at kunne finde en Sammensætning af Fixationsvæskerne, der tillod sikker, elektiv Megakaryocytgranulafarvning.

Den chromsyreholdige Væske blev derfor nu prøvet sammen med vandige Sublimatopløsninger i forskelligt Blandingsforhold.

Præparaterne viste sig gennemgaaende ensartet farvede, ikke ulig de bedste, jeg tidligere havde faaet. Granulafarvningen var bedre end efter Fixation med Komponenterne alene. Den heldigste Farvning syntes at fremkomme, naar Blandingsforholdene var lige Dele.

Det blev derfor naturligt at slutte, at den fordelagtigste Kombination mellem de benyttede Væsker maatte være den, der forenede forholdsvis ringe Mængde Hellys Væske (÷ Formalin) med den største Mængde Sublimat.

I Müllers Væske øgede jeg derfor Indholdet af Sublimat ved at

*) sml. Jolly 1923, p. 33.

tilsætte dette i Substans. Der blev fremstillet Opløsninger i alle hele Procentmængder fra 6—26. Det maximale Opløselighedsforhold af Sublimat i Müllers Væske er ved Stuetemperatur omkring 7 %. Der findes m. a. Ord i næsten alle de nævnte Opløsninger et betydeligt Saltoverskud, som, efter at Tilsætningen har fundet Sted ved 100°, ved den paafølgende Afkøling krystaliserer ud.

De bedste Præparater fremkom efter Fixation i 10, og navnlig 20 %' Opløsninger.

Samtidig med, at jeg paa selve Farvningens Omraade havde opnaaet visse Forbedringer (se p. 44, 50 og 51), gav Fremgangsmaaden nu saa gode Resultater, som man kunde vente.

Müllers Væske, hvori der ved Opvarmning opløses 20 % Sublimat, (»Sublimat-Müller«) er derfor altid blevet anvendt til mine senere Undersøgelser. Jeg skal andetsteds omtale Præparaternes Udseende.

Inden Fixations- og Farvemetoden kunde antage endelig Form, maatte en Del supplerende Undersøgelser foretages. Jeg agtede herigennem at øve en vis Kontrol med de allerede indvundne Resultater. Tillige var det nødvendigt at gennemprøve de forskellige Led i Teknikken for herigennem at finde, hvilken Indflydelse de hver især havde paa ensartet Fremkomst af brugbare Præparater.

Naar i det hele taget kun faa Granulafarvemetoder kan siges at virke tilfredsstillende, er Aarsagen hertil som Regel unøjagtige Angivelser af Fixations- og Farvningsprocedurerne. Man har bortforklaret eventuelle Mangler i Stedet for at præcisere Fremgangsmaaden det mest mulige.

Adskillige Metoder er angivet paa en saadan Maade, at mange Variationer er mulige, baade med Hensyn til Fixationsvæskerne, Koncentrationerne og Arten af Farveopløsningerne samt Farvningstiderne. Som fremhævet af *Ellermann*, er Hovedsagen Fixationen, idet denne betinger tilfredsstillende Farvning. Præcisering af de forskellige Led i Fremgangsmaaden er endvidere en Nødvendighed.

Ved Farvningen gør der sig let et andet Forhold gældende, der langt fra forbedrer Udsigterne til et heldigt Udfald. Naar en Metode er blevet anset for tilstrækkeligt indøvet, er det ofte fristende at farve et større Antal Præparater samtidig. For Granulafarvemetoders Ved-

kommende vil dette imidlertid sjældent med Held lade sig gennemføre, idet disse Metoder er meget følsomme overfor Endringer i Fremgangsmaaden. I større Rækker af Præparater vil, ved Overgangen fra den ene Procedure til den anden, snart eet, snart et andet af Snittene være udsat for en altfor lang Behandling. Den oprindelige Plan i Fremgangsmaaden bliver herved forrykket. Der maa for hver Metode kræves et Optimum, som fra første Færd skal være fastsat og senere altid bør respekteres.

De Punkter, jeg ved Vævsbehandlingen rettede min Opmærksomhed imod, efter at Fixationsvæskens Sammensætning havde ladet sig fastslaa, var følgende: 1. Materialets Art og Tilstand, 2. forskellige Forhold vedrørende de til Fixationen benyttede Væsker samt Fixationstiden og 3. Vævsstykkernes Udvanding, Afvanding og Klaring. (Angaaende 4. Farvningen, se p. 40).

Ved Undersøgelserne heraf har jeg stadig benyttet den Fremgangsmaade kun at variere een Faktor, medens de andre blev holdt konstante, saa vidt det lod sig gøre. Der vil herigennem ved Bedømmelsen af Resultaterne skabes et ensartet Grundlag.

Forskelligheder i Materialets Oprindelse kunde tænkes at spille en Rolle, idet Megakaryocyter muligvis hos den ene Dyreart viste større Affinitet til Farvevæsken end hos den anden. Kan imidlertid andre Forhold udelukkes, bliver det alene et Spørgsmaal om Cellemorfologi, hvorvidt man foretrækker at anvende Metoden overfor Knoglemarv fra Mennesker, Kaniner, Marsvin, Katte eller Mus.

Individets Alder syntes ikke at have nogen Indflydelse. Cellerig Marv fra unge Dyr lod sig fixere og farve paa samme Maade som mere fedtholdigt Væv fra ældre.

Af stor Vigtighed var det at faa fastslaaet, hvor længe Materialet kunde taale at henligge efter Dødens Indtræden, inden Fixationen blev paabegyndt; m. a. Ord, om det er paakrævet, at Materialet er legemsvarmt fixeret. I saa godt som alle hæmatologiske Haandbøger og mange Afhandlinger (f. Ex. af *Schridde*, *Wright* og *Ogata*) lægges megen Vægt paa, at Materialet er udtaget, enten medens Dyret lever eller umiddelbart efter, at det er dræbt. Jo mere legemsvarmt Vævet er, desto bedre vil efter *Schmorls* Mening den efterfølgende Farvning lykkes. *Brown* anfører imidlertid, at dette kun er nødvendigt af Hensyn til

Blodpladernes Farvning i Snitpræparater. Megakaryocyterne har derimod ladet sig farve tilfredsstillende, selv naar Fixationen først fandt Sted 8—10 Timer efter Dødens Indtræden.

Jeg anser det for meget tvivlsomt, om man har gjort rigtigt i at tillægge dette Forhold ved Vævsbehandlingen en saa afgørende Betydning for Farvningens heldige Udfald.

Ellermanns Granulafarvemetode, der har hævdet sin Overlegenhed, er saaledes hovedsagelig baseret paa Sektionsmateriale. Selvom de hæmatopoietiske Organer har henligget i Kølerum i indtil 48 Timer, synes Farvningsresultaterne ikke at være forringet derved. Lignende Iagttagelser har jeg gjort ved Anvendelse af Ellermanns Metode overfor Væv fra Kaniner, der har henligget i Kølerum indtil 18 Timer efter Dødens Indtræden.

Fremdeles har jeg søgt at danne mig en Forestilling om, hvorledes Megakaryocyternes og Blodpladernes elektive Farvning forholdt sig i Snitpræparater, naar Vævsstykkerne in situ havde henligget ved 2—4° i indtil 6 × 24 Timer og derpaa var blevet fixeret og farvet efter den (p. 50) angivne Metode.

For Blodpladernes Vedkommende fik jeg ingen sikre Oplysninger om disse Formelementers Farvelighed, idet jeg intetsteds i Snitpræparater fandt granulerede Legemer af denne Art. Megakaryocytfarvningen viste derimod følgende Forhold:

I det første Døgn saas ingen tydelige Forandringer i Knoglemarven. Efter 2. Døgn var Megakaryocyternes Granula meget stærkt farvede, undertiden af lidt vekslende Størrelse og Form. 3. Døgn efter Dødens Indtræden var samtlige Marvceller endnu temmelig godt bevarede. De fleste Megakaryocytgranula var meget stærkt farvede og vekslende af Størrelse. De største og mest uregelmæssigt formede fandtes perifert. Kærnerne var i begyndende Opløsning, diffust blaa.

Efter 6 Døgns Henliggen i Kølerum var Vævet i Henfald, dog lod en Del af Cellerne sig endnu se. Samtlige Kærner var diffust blaa. Megakaryocyternes Granula var som Regel erstattet af rødlige, strukturløse Masser. Paa Kærnens Plads fandtes Huller i Cellen, eller højst Kærnerester. I alle de mindre Celler, der endnu nogenlunde havde bevaret deres Form, saas opsvulmede, rubinrøde Granula.

Til Kontrol af disse Fund har jeg benyttet Materiale fra det samme Dyr, fixeret umiddelbart efter Dødens Indtræden, ligesom alt Væv er viderebehandlet paa ens Maade.

Det fremgaar af det ovenanførte, at Megakaryocyterne er temmelig resistente overfor Henliggen i Kølerum. For samtlige Cellers Vedkommende spores imidlertid efter 2—3 Dages Forløb Forandringer af Granulas Størrelse, Form og Farvelighed, samt Kærnens indre Struktur.

Til Sammenligning vil kunne tjene lignende Erfaringer, jeg har gjort med Anvendelsen af min Fixationsmetode paa Ligmateriale fra Mennesker (af forskellige Aldre, døde af vekslende Aarsager).

Ovennævnte Forhold har vist, at det spiller en underordnet Rolle, om Materialet er legemsvarmt, naar Fixationen paabegyndes. Vævet taaler Henliggen i Kølerum (+ 2—4°) i 24, til Nød 48 Timer, uden at dette vil kompromittere Granulafarvningen i kendelig Grad.

Fremdeles har jeg undersøgt, hvilken Størrelse, Vævsstykkerne skulde have for at tillade ensartet, maksimal Megakaryocytfarvning. ½—1 cm. lange Knoglemarvscylindre fra voksne og halvvoksne Kaniner besad de fordelagtigste Dimensioner. Var Stykkerne enten større eller mindre, gjorde visse Forskelligheder sig gældende. Aarsagen hertil har muligvis været, at Fixationsvæskens Diffusion og Saltindhold blev forandret i de forskellige Vævslag.

Fixationsvæskens Sammensætning (»Sublimat-Müller«) er yderligere blevet gjort til Genstand for Undersøgelse, dels for at opnaa en Forenkling i Saltindholdet, dels for at prøve, om andre Chromforbindelser bød paa nogen Fordel, specielt m. H. t. Farvningen af Blodplader.

Jeg har i denne Hensigt fixeret Knoglemarv i »Sublimat-Müller«, hvor Saltindholdet er blevet varieret paa de nedenfor nævnte Maader.

1. Med konstant Sublimat- og Natriumsulfatmængde (henholdsvis 20 % og 1 %) har jeg varieret Indholdet af Kaliumbichromat fra 1—20 %.

Resultatet var, at jo større Chrommængde, desto slettere blev Kærnefarvningen, ligesom Granula i samtlige Celler var uskarpe. Øverste Grænse for det brugbare laa ved 5 %, bedst var 1 %.

2. Med konstant Sublimat- og Kaliumbichromatmængde (henholdsvis 20 % og 1 %) varieredes Indholdet af Natriumsulfat fra 2,5—50 %.

Resultatet blev, at jo højere man steg i Natriumsulfatmængde, desto mere indgribende Forandringer undergik Vævet: Kærnefarvningen blev diffus, og Granula flød sammen til skyede Masser. I Megakaryocyterne saas af og til hvirvelformede Granulastrøg. Vævsstrukturerne var mere eller mindre ændret. Bedst Fixation og Farvning gav 2,5 %.

3. Idet jeg for anden Gang gennemprøvede Variationer i Sublimatindholdet fra 1—50 %, kom jeg til et Resultat, der stemte overens med det tidligere vundne.

Jeg gik derpaa over til at prøve, hvilken Indflydelse Chromsaltets Art havde kvalitativt eller kvantitativt paa Megakaryocyternes og Blodpladernes Farvning.

De mest ensartede Forhold, formodede jeg, vilde lade sig skabe, naar Opløsningerne havde samme CrO_3-Koncentration.

Mængdeforholdet, hvori de forskellige Salte skulde tilsættes, naar Kaliumbichromat var 25, blev saaledes følgende:

Kaliumchromat: 33,0, Ammoniumbichromat: 21,4, Ammoniumchromat: 25,9, Natriumbichromat 25,3, Natriumchromat: 58,1.

Disse Fixationsforsøg viste, at ingen af de ovennævnte 5 Chromforbindelser var i Stand til at yde mere end Kaliumbichromat.

Jeg har ligeledes undersøgt, hvilken Indflydelse vekslende Fixationstider kunde have paa den elektive Farvning af Megakaryocyterne. Paa et temmelig tidligt Tidspunkt havde jeg erfaret, at 48 Timers Fixation tilsyneladende gav de bedste Resultater. Senere foretog jeg mere indgaaende Forsøg og fandt Optimum beliggende imellem 18 og 27 Timer. Jeg har derfor altid senere benyttet 24 Timers Fixation. Gør man Forsøg paa at afkorte Tiden, bliver Præparaterne blege, uensartet fixerede og Granula uspecifikt farvede.

Den til Fixationen bedst egnede Temperatur var alm. Stuetemperatur, idet man hverken ved 55°, 37° eller 2—4° opnaaede Resultater, der var bedre.

Efter paa den ovenfor beskrevne Maade at have gennemprøvet de Faktorer, der maatte formodes at have Indflydelse paa selve Fixationen, stod endnu tilbage at prøve, om Variationer i de derpaa føl-

gende Procedurer spillede en Rolle for Opnaaelsen af et gunstigt Resultat.

Det maatte saaledes undersøges, om Udvanding af de fixerede Vævsstykker, samt Afvanding og Klaring inden Paraffinindsmeltning krævede, at visse Forholdsregler blev taget. Til Slut maatte selve Farvningen (Teknik og Væskesammensætning) underkastes en indgaaende Analyse.

Den Tid, hvori Vævsstykkerne bør undvandes, har vist sig at skulle være lige saa lang som Fixationstiden. Den dobbelte Tid gav Anledning til, at Præparaterne ændredes noget i Farvelighed, idet de blev blegere, graalige, let uskarpe. Afkortede jeg paa den anden Side Vævsstykkernes Ophold i det rindende Vand, viste Præparaterne Tendens til Overfarvning og mangelfuld Differentiering. Udvanding i almindeligt, stillestaaende Vand eller destilleret Vand frembød ingen Fordel.

Ved Ændring af Temperaturen under Udvandingen sporedes ingen Forandring. Dette stemmer med, at den skiftende Temperatur, som rindende Vand har Sommer og Vinter, ikke influerer paa Farvemetodens Resultater, naar de andre Forhold er konstante.

I længere Tid undlod jeg at skænke de efter Udvandingen følgende Processer større Opmærksomhed. Da Fremgangsmaaden ved Vævsbehandlingen i Forvejen var temmelig lang, havde jeg søgt at reducere Afvandingen i stigende Alkoholkoncentrationer og Klaring i Xylol til det mindst mulige, (20 + 2 + 2 Timer i Alkohol samt 2 Timer i Xylol). Den af Wright angivne Behandling med Aceton og Cederolie syntes at kunne udelades. Der gjorde sig imidlertid nu og da Forhold gældende, som viste, at Metoden endnu var behæftet med Mangler; specielt var Farvningen af Megakaryocyternes Granula undertiden mindre tilfredsstillende. Ved at forøge Tiderne for Alkohol- og Xylolbehandlingen (til 24—24—24 samt 4 Timer), forsvandt imidlertid Ulemperne straks.

Resumé:

Det har hermed ladet sig fastslaa, at en Fixationsvæske med Sammensætningen: Müllers Væske gram 100, Sublimat gram 20, indeholder den Saltkombination, der bedst og sikrest muliggør elektiv

Farvning af Megakaryocyterne i Snitpræparater. Til Blodpladerne har jeg derimod intet sikkert kunnet se.

Vævsstykker af passende Dimensioner fixeres i 24 Timer og udvandes derefter i rindende Vand i lige saa lang Tid.

Til Afvanding benyttes Etylalkohol (70 %, 96 % og 99 %), 24 Timer i hver Styrke; Klaring i Xylol og Paraffinindsmeltning kræver hver 4 Timer.

Det kan ikke anses for en Nødvendighed, at Materialet er fixeret legemsvarmt; Opbevaring i Kølerum indtil 24 Timer ændrer som Regel ikke Granulafarvningens Art og Styrke i Megakaryocyterne.

OM FARVETEKNIKEN.

Mine Forsøg paa at bringe Wrights Teknik til Anvendelse har ogsaa paa selve Farvningens Omraade affødt store Vanskeligheder.

Som tidligere nævnt, lod Wrights Teknik sig kun benytte en enkelt Gang, skønt min Fremgangsmaade stadig syntes uændret. Da mine Undersøgelser over Vævsbehandlingen paa daværende Tidspunkt kun var i sin Begyndelse, ligesom jeg savnede det senere erhvervede Overblik, var det umuligt for mig at fastslaa Aarsagen til de inkonstante Resultater.

Jeg indsaa derfor Nødvendigheden af ogsaa at underkaste Farvningen en indgaaende Analyse. Spørgsmaalet om Anvendeligheden af den hertil benyttede Romanowsky-Væske, samt selve Tekniken, maatte nu kræve lige saa stor Opmærksomhed som Fixationen.

Meget af det Arbejde, der er blevet anvendt paa den farvetekniske Side af Sagen, forekommer mig bagefter at burde være reduceret stærkt. Først sent gik det op for mig, at de Oplysninger, jeg ad denne Vej fik i Hænde, kun i ringe Grad formaaede at bringe mig udover Vanskelighederne ved Farvning af Megakaryocytgranula i Snitpræparater.

Ved Omtalen af Farvningsforsøgene skal jeg indskrænke mig til kun at nævne Hovedpunkterne. Disse omfatter:

1. Farvevæskefremstillingen, mine Forsøg paa Anvendelse af de derved vundne Produkter samt Undersøgelse af, hvorvidt andre azurholdige Væsker kunde erstatte Wrights Farveopløsning.

2. Forsøg paa at udfinde, om den øvrige Farveteknik havde Andel i de Vanskeligheder, der var forbundet ved at benytte den af Wright anbefalede Fremgangsmaade.

3. Undersøgelse af, hvilken Farvevæskekomponent, der maatte antages at betinge den elektive Megakaryocytgranulafarvning i Snitpræparater.

Paa Farvningens Omraade har jeg med saa stor Nøjagtighed som mulig søgt at følge Wrights Forskrifter. I Overensstemmelse hermed fremstillede jeg til en Begyndelse selv Wrights Farvevæske.

Anvisningen herpaa findes flere Steder. Under Betegnelsen »Wrights Farve« skjuler der sig imidlertid ikke mindre end 4 forskellige, hvis Sammensætning er varierende, men som alle har Romanowsky-Princippet tilfælles. Et nærmere Eftersyn røber, at dette Forhold er betinget af Uensartethed i Angivelserne. Man kan efter Fremstillingsmaaderne ordne Væskerne i 2 Hovedgrupper.

Jeg skal kort anføre Fremgangsmaaderne, samt nævne, hvorpaa Forskellighederne beror.

I. Efter nogle Forskrifter er Wrights Farveopløsning en metylalkoholisk Opløsning af et Præcipitat. Dette er fremstillet ved, at man med en vandig Eosinopløsning fælder polychrom Metylenblaat opløst i Vand.

Fremstillingen kan finde Sted paa to forskellige Maader.

Efter Mallory & Wrights Teknik, 1921, Side 418, koges en vandig Opløsning, indeholdende ½ % Bicarbonat og 1 % Metylenblaat 1 Time i Dampsterilisator. Den afkølede Væske blandes efter Filtration med 1 ‰ vandig Eosinopløsning (1 : 5). Det herved dannede Præcipitat frafiltreres og tørres, hvorefter det opløses i Metylalkohol i Forholdet 10 ctgr. : 60 cm³ (ɔ: 0,167 % Opl.).

I Journal of Medical Research (1902) findes følgende Afvigelse fra den ovenanførte Fremgangsmaade:

Efter Afkøling undlades Filtration; Pulveret opløses i rent Metylalkohol til Mætning; efter yderligere Tilsætning af Metylalkohol (¼ Rumfang) faas Farvevæsken af omtrentlig Styrke 30 ctgr.: 120 cm³ (ɔ: ca. 0,25 % Opl.).

Forskellen paa disse to Angivelser er altsaa følgende:

Den efter Kogningen afkølede Væske filtreres i det ene Tilfælde, i det andet Tilfælde undlades dette.

Væskernes Styrke er forskellig. Det angives endvidere, at de vil kunne benyttes til Farvning dels af Blod- og Knoglemarvsudstrygningspræparater, dels af Malariaparasiter.

Noget vildledende er det imidlertid, naar den sidstnævnte Variation af Farvevæsken er blevet anvendt af Wright (1906) til Megakaryocytfarvning i Snitpræparater. De nedenfor nævnte Variationer angives ellers at skulle benyttes hertil.

II. Efter den anden Gruppe Opskrifter er Wrights Farvevæske: en Blanding af vandig polychrom Metylenblaatopløsning og metylalkoholisk Eosinopløsning.

Efter Mallory & Wrights Teknik, 1921, Side 152, finder Fremstillingen Sted ved, at der koges i 1½ Time; efter Afkølingen filtreres den polychrome Opløsning, hvoraf 1 Del blandes med 10 Dele af en 1 ‰ metylalkoholisk Eosinopløsning og derved giver den færdige Farvevæske.

I Journal of Morfologi 1910 angives et andet Blandingsforhold, idet Farvevæsken efter denne udgøres af: 3 Dele polychrom Metylenblaatopløsning og 10 Dele 2 ‰ metylalkoholisk Eosinopløsning.

Forskellen beror altsaa dels paa Blandingsforholdet og dels paa den anvendte Eosinopløsnings Styrke (1 ‰, 2 ‰).

Farvevæsken er beregnet til Differentialfarvning af Megakaryocyter og Blodplader i Snitpræparater og er bl. a. benyttet af Wright til de Præparater, der har dannet Grundlaget for den Revision, han i 1910 har foretaget af Teorien.

Det ses af ovenanførte Forhold, at Angivelserne til Fremstilling af den Farvevæske, der skulde være et ensartet Produkt, er meget svingende.

Som yderligere Bekræftelse af, hvor inkonstante Forskrifterne er, vil kunne tjene, at de benyttede Metylenblaat- og Eosinpræparater angives forskelligt. Resultatet af det Farveskifte, den polychrome Metylenblaatopløsning skulde undergaa ved Afkøling, beskrives snart som purpur, snart som blaa.

Disse Forhold træder dog i Baggrunden for de to principielle Forskelligheder i Fremstillingsmaaden: Filtration eller ej og Eosintilsætning i vandig eller metylalkoholisk Opløsning.

De baade kvalitative og kvantitative Variationer, der saaledes ved Farvevæskefremstillingen er aabnet Mulighed for, maa sikkert have været delagtige i de Uheld, Undersøgere før mig har haft ved Forsøg paa Benyttelse af Wrights Teknik.

Det blev nu et Spørgsmaal, hvilken af de ovenanførte Fremgangsmaader jeg med størst Fordel kunde benytte ved Eftergørelsen af Wrights Teknik.

Fra Grübler (Leipzig) vilde jeg kunne faa »Wrights Farvestof«. Det var imidlertid ikke ønskeligt paa daværende Tidspunkt at stille Forsøgene i Bero saa lang Tid, som Fremskaffelsen heraf vilde kræve. Fremdeles tilsigtede jeg, saa vidt det lod sig gøre, ogsaa indenfor dette specielle Omraade at efterprøve Wrights Angivelser.

Til Grund for Farvestoffremstillingen lagde jeg Wrights Opskrift fra 1902. Forud havde jeg dog gjort et forgæves Forsøg paa at foretage en Præparation efter den Forskrift, der maatte antages at være den senest angivne. Herved havde jeg haabet at kunne drage Nytte af de Forbedringer, Wrights og andres Farvningsforsøg muligvis havde medført.

Det fremstillede Produkt blev anvendt som Indikator ved mine Forsøg over de af Wright angivne Fixationsmidler.

Senere fremstillede jeg 4 Farvevæsker efter de Variationer, Wright-Opskrifterne muliggør, dels fordi den oprindelige Portion var opbrugt, dels for at danne et Led i mine Bestræbelser for at komme udenom de Vanskeligheder, jeg havde mødt ved Megakaryocytfarvningen.

Hverken disse Farvevæskefremstillinger eller gentagne Forsøg paa atter at faa brugbare Farvevæsker efter Opskriften 1902 lykkedes.

Da det var nødvendigt at have en Farveopløsning, der, saavidt det lod sig bedømme, var nogenlunde ensvirkende, gik jeg over til at prøve andre azurholdige Væsker, saasom Giemsas og Leishmans.

Resultatet var stadig ringe, hvadenten Farveopløsningerne blev anvendt rene, kombineret med May-Grünwalds Væske i den ene eller anden Fortyndingsgrad eller med vekslende Indvirkningstid.

Wrights Farvestof fra Grübler blev nu prøvet. Skønt dette ikke paa daværende Tidspunkt forbedrede Situationen kendeligt, bestemte jeg mig dog til for Fremtiden udelukkende at benytte dette. Aarsagen hertil var væsentligst den, at det lod sig bruge i forskellig Fortyndinger uden at give generende Udfældninger under Farvningen.

Jeg rettede nu min Opmærksomhed paa de Procedurer, der fulgte efter selve Farvningen.

Næsten alle Snitpræparaterne var under Vanddifferentieringen rødlige. Paa ganske faa Undtagelser nær indtraf imidlertid momentan Blaafarvning ved Afvandingen i Aceton. For om muligt at undgaa dette Farveskifte, anstillede jeg meget omfattende Forsøg, som imidlertid kun kort skal omtales, da de lige saa lidt som Forsøgene paa Farveæskefremstillingen medførte nogen Forbedring.

Jeg undersøgte de Processer, der gik forud for Afvandingen. Hverken Udvandingens Art, Tid eller Vandets Kalkindhold syntes at spille nogen Rolle. For at gøre de farvede Granula mere resistente overfor Acetonen, forsøgte jeg dels Bejtsning (med Anilinolie eller Phenol) dels at gøre Bindingen mellem Farve og Granula mere stabil ved Fældning med molybdænsurt Ammonium, Pikrinsyreopløsning, Jod-Jodkalium, Blyacetat, Bariumklorid, Kobbersulfat. Alt dette nyttede imidlertid ikke.

Til selve Afvandingen benyttede jeg dels rent, dels urent Aceton. Indvirkningstiden blev afkortet. Kom man herved under en vis Grænse (10 Sekunder) var Megakaryocytgranula nok rødlige, men Præparatet indeholdt endnu Vand. Forandringer i Acetonens Temperatur frembød ingen Fordele.

Da der ikke opnaaedes Forbedringer ved Variationer foretaget indenfor de Rammer, Wrights Forskrifter tillod, gik jeg bort herfra og forsøgte mere gennemgribende Ændringer.

I Stedet for Aceton prøvede jeg saaledes dels Aceton-Terpentinblandinger i Haab om at svække Acetonens skadelige Indflydelse, dels mættet Opløsning af Azur i Aceton for at mindske Affarvningen af Megakaryocytgranula.

Tilsidst undlod jeg helt at benytte Aceton og forsøgte i Stedet for

Afvanding med: Æther (alm. eller puriss.; ved alm. Temperatur eller isafkølet), Æther-Terpentinblandinger, Bergamotolie eller brændt Kobber-sulfat (opslemmet i Terpentinolie til en Vælling, der, efter i flere Timer at have været paasmurt Præparatet, blev skyllet af med ren Terpentinolie).

For helt at undgaa Afvandingen, blev Præparaterne umiddelbart efter Farvningen indlejret i Glycerin eller Lævulosesirup. Af det første blev Vævet straks blaat, det sidste foraarsagede uheldige Brydningsforhold.

Herefter opgav jeg videre Forsøg paa at ændre selve Wrights Farveteknik.

Jeg var imidlertid efter dette blevet bestyrket i min Formodning om, at Fixationen dannede det centrale Problem i Tekniken. Denne Opfattelse viste sig at være rigtig, idet alle de Vanskeligheder, jeg havde haft, væsentlig forsvandt i det Øjeblik, en passende Kombination mellem Chrom og Sublimat blev fundet.

I det følgende skal jeg omtale de Forandringer, som metylalkoholiske Opløsninger af Wrights Farve (Grüblers Præparat!) har vist sig at undergaa ved Henstand baade m. H. t. Styrke og Farvemaade.

Ligesom det er kendt fra May-Grünwalds og Leishmans Væsker, ændres ogsaa Wright-Farvevæsken lidt efter lidt. Inden saadanne Variationers Tilstedeværelse havde ladet sig fastslaa ogsaa for den sidstnævnte Væskes Vedkommende, bidrog Forandringer af denne Art til at besværliggøre Snitfarvningen for mig.

Saadanne Forandringer maa bl. a. have været medvirkende Aarsag til, at Sublimatfixationen paa et tidligt Tidspunkt i mine Forsøg viste sig uanvendelig.

Jeg har systematisk gennemprøvet koncentrerede Opløsninger af Wright-Farvestof (Grübler) lige fra de frisk tilberedte indtil 1 Aar gamle. Vævssnittene er alle blevet fixeret (i »Sublimat-Müller«) og viderebehandlet paa nøjagtig samme Maade, samt farvet i ens Tid og i samme Fortyndingsforhold.

Straks efter Opløsningen var tilberedt, gav, selv efter mere end 1½ Times Indvirkningstid, den karakteristiske Farvning sig kun svagt tilkende. Allerede efter eet Døgns Forløb var Væskens Brugbarhed i den

Grad øget, at 8—10 Minutters Farvning var tilstrækkeligt, og efter 2—3 Døgn naaedes maximal Farvningsevne, idet der kun krævedes 5—6 Minutter for at fremkalde tilfredsstillende Farvning. Denne Evne besad Væsken imidlertid kun uændret i 12—14 Dage. Der lod sig da spore en Tiltagen af Væskens Styrke samtidig med, at Virkemaaden blev noget forandret.

Leishmans og May-Grünwalds Farveopløsninger naar først fuld Anvendelighed efter Lagring igennem Maaneder. Til Gengæld holder de sig derpaa konstante i lang Tid. Wrights Farveopløsning har altsaa i Modsætning hertil sin Virknings Optimum fra (3.)—4. til 12.—(14.) Dag efter at Opløsningen er tilberedt, for derefter ret hurtigt at tabe i Farveværdi.

Skal Farvetekniken kunne ventes at give ensartede Resultater, er det af Vigtighed ogsaa at tage dette Forhold i Betragtning.

Ved de ovennævnte Undersøgelser har azurofile Granula i Snitpræparaterne efter min Mening vist en karakteristisk Reaktionsmaade. De lader sig nemlig sidst af alle Celleelementer farve specifikt og er de første, der reagerer overfor Ændringer i den Maade, hvorpaa Vævene behandles.

Til Slut skal jeg omtale visse Forhold vedrørende de af mig benyttede Farvevæskers Evne til i Snitpræparater at give elektiv Megakaryocytgranulafarvning. Romanowskyfarvningen rummer imidlertid Problemer, der i den Grad er komplicerede, at der maa kræves speciel Indsigt paa det farvetekniske Omraade for indgaaende at kunne beskæftige sig dermed. Jeg skal derfor indskrænke mig til mere almindelige Bemærkninger.

Den karakteristiske Farvning, som Romanowsky-Væskerne giver, skyldes Azur. Henstaar rent Metylenblaat i alkalisk Opløsning, viser det sig, at der fraspaltes visse Atomgrupper, hvorved dannes Metylthionin, hvis Base lader sig opløse i Æther (og Chloroform) med rød Farve. Betegnelsen »Rot aus Metylenblau« skylder dette Forhold sin Oprindelse. *Nocht* har paavist, at polychrom Metylenblaat baade med og uden Eosintilsætning, ligesom »Rot aus Metylenblau« tilsat Eosin, giver den karakteristiske Azurfarvning. *Giemsa* fremstillede Azur rent.

I et nyligt udkommet Arbejde af *Moschkowsky* (1924) er Forhol-

dene ved Azurfarvningen i Udstrygningspræparater blevet underkastet en indgaaende Analyse. Det fremgaar heraf, at Azur virker som Bejtse i de Farveopløsninger, der er dannet efter Romanowsky Princippet, medens Eosin er den egentlig farvende Komponent. Farvning med Azur alene bibringer de azurofile Substanser en svag rødlig Farve, idet der dannes en saltagtig Forbindelse; den karakteristiske Farve opstaar dog først, naar Eosin bindes hertil, idet der dannes et komplext Salt.

Udfra forskellige Iagttagelser, jeg havde gjort under Fixations- og Farvningsforsøgene, følte jeg Trang til at danne mig et Skøn over visse Egenskaber hos de af mig benyttede Farvevæsker. Det interesserede mig saaledes især at se, hvilken Komponent der betingede den elektive Megakaryocytfarvning, samt i hvilken Mængde denne maatte formodes at optræde i de benyttede Væsker. Da det ikke var min Hensigt at anvende indviklede Undersøgelsesmetoder hertil, søgte jeg at skaffe mig Oplysningerne paa de to nedenfor anførte Maader. Jeg prøvede dels, hvorledes de forskellige Farveopløsninger forholdt sig overfor Snitpræparater, der var fixeret i »Sublimat-Müller« og viderebehandlet paa ens Maade, dels hvilken Farvestyrke Æther antog, naar Farvevæskerne blev udrystet dermed.

Paa denne Maade vilde jeg kunne danne mig et Begreb om, hvorvidt der fandtes Forbindelse mellem Farvevæskernes Azurindhold og Farvningsevnen overfor Megakaryocytgranula.

Naar jeg foretog disse ret grove Prøver, var det hovedsagelig i Haab om at kunne erstatte Wrights Farvevæske med en enklere Forbindelse, der ikke alene holdt sig konstant igennem Tiderne, men lod Blodpladerne i Snitpræparater træde frem med en Farvning saaledes, som det er kendt fra Udstrygningspræparater.

Først og fremmest søgte jeg Nochts og tildels Moschkowskys Bevis eftergjort paa mine Snitpræparater. Hertil benyttede jeg metylalkoholiske Opløsninger dels af polychrom Metylenblaat, dels rent Azur, begge med eller uden Eosintilsætning.

Medens de Opløsninger, der alene indeholdt Azur, kun gav ensartet lyseblaa Farvning af alle Elementer, antog bl. a. ogsaa Megakaryocytgranula en lys rødblaa Farvetone, naar Eosin var tilsat eller blev benyttet til Efterfarvning.

Nochts Bevis eller Moschkowskys Teori om Azurs bejtsende Evne synes saaledes ikke at have ladet sig bekræfte overfor Snitpræparater.

Dette ret overraskende Resultat bevirkede imidlertid, at jeg søgte at gennemprøve Farvningsevnen (overfor Snitpræparater) af de Stoffer, der maa regnes for at indgaa som Komponenter i Wrights Farvevæske.

Mættede metylalkoholiske Opløsninger (fortyndet umiddelbart før Brugen med destilleret Vand) af Metylenblaat, tre Azur-Præparater (rent Azur, Azur 1 og Azur 2) samt Metylenviolet (alle fra Grübler) blev prøvet dels alene, dels i de Kombinationer, der var mulige, samt i forskellige indbyrdes Blandingsforhold. Disse Forsøg blev gentaget i de samme Kombinationer med Eosintilsætning.

Bedst Resultat fik jeg med Azur-Eosinblandingerne: Megakaryocytgranula lod sig hermed farve middelstærkt rødblaa.

Idet jeg søgte Farvningsforsøgene gentaget med vandige Opløsninger, fremkom, som det var at vente, et mørkt Præcipitat, naar Eosin og Azur (samt Metylenviolet) optraadte sammen, idet Syren (Eosin) og Basen (Azur) forbandt sig med hinanden.

Det interesserede mig at prøve dette i Vand tungt opløselige Salts Farvningsevne. For hurtigt at faa en passende Mængde heraf til Disposition blandede jeg 500 cm³ mættede vandige Opløsninger af rent Azur og Eosin (Bx) med hinanden. Efter et Par Timers Henstand filtreredes det mørke Præcipitat fra og tørredes efter Vaskning med destilleret Vand i elektrisk opvarmet Thermostat. Af den ringe Mængde Farvepulver, der saaledes var blevet udvundet, fremstillede jeg en mættet Opløsning i kemisk rent Metylalkohol; umiddelbart før Farvningen fortyndedes denne med destilleret Vand i Forholdet 2 + 1 og 1 + 1. Farveopløsningen blev kun benyttet, medens den var 4—12 Dage gammel.

Med dette selvfremstillede eosinsure Azur antog Megakaryocytgranula i Snitpræparater, der var fixerede i »Sublimat-Müller«, en Farve, som i Art og Styrke ikke adskilte sig væsentlig fra den, Wrights Farvevæske havde givet.

Medens de azurofile Megakaryocytgranula saaledes i Snitpræparater kun har ladet sig farve lyseblaa med rent Azur og svagt blaarøde i metylalkoholiske Azur-Eosin-Blandinger, giver eosinsurt Azur ceriserød Farvning.

Det nævnte Salt synes tillige at være i Stand til at bibringe de

tidligere omtalte, uvirksomme, selvfremstillede Wrightske Farvevæsker Evne til elektiv Farvning.

Disse Resultater stemmer ikke overens med Moschkowskys. Naar Azur er benyttet alene, ser jeg saaledes ingen svag rød Farvning af Megakaryocytgranula i de med »Sublimat-Müller« fixerede Snitpræparater.

Endvidere farves Granula ikke elektivt ved eventuel paafølgende Behandling med Eosin. Efter min Mening beror den elektive Farvning af Megakaryocytgranula i Snitpræparaterne i det alt væsentlige paa Tilstedeværelsen af eosinsurt Azur.

Som en Art Supplement til det ovennævnte benyttede jeg en anden Undersøgelsesmaade. De Væsker, der havde kunnet være Tale om at søge anvendt ved Farvningen af azurofile Substanser i Snitpræparater, udrystede jeg med Æther.

Ordnes Væskerne efter Intensiteten af Ætherextraktets røde Farve, er Rækkefølgen:

1) eosinsurt Azur, 2) Giemsas-, 3) Wrights-, 4) Leishmanns- og 5) May-Grünwalds Væsker. Sammenstiller man derimod Væskerne efter deres Evne til i Snitpræparater at farve Megakaryocyternes azurofile Granula elektivt, er Rækkefølgen en anden:

1) Wrights Farveopløsning (Grüblers Præparat), 2) eosinsurt Azur (selvfremstillet Præparat), 3) May-Grünwalds-, 4) Leishmanns-, 5) Giemsas Væsker samt 6) Azur (rent), der overhovedet ikke farver Granula specifikt.

Det fremgaar af den ovenanførte Sammenstilling, at der gør sig en kendelig Forskel gældende paa Væskerne, idet deres Azurindhold ikke stemmer overens med deres Evne til at farve Megakaryocytgranula i Snitpræparater. Hvorpaa dette beror, kan jeg ikke sige. Muligvis kan andre Stoffer end Azur bibringe Ætherextrakt rød Farve, eller ogsaa formaar andre Eosinforbindelser at farve azurofile Substanser elektivt i Snitpræparater.

Af flere Grunde har jeg ikke undersøgt disse Forhold nøjere, ligesom jeg har undladt at anstille Forsøg med andre Væskers Evne til at bibringe de azurofile Megakaryocyter elektiv Farvning i Snitpræparater.

Eosinsurt Azur og Wrights Farvevæske opfyldte de Krav, jeg kunde stille til dem under de givne Forhold. Da det sidstnævnte Præparat kan faas som et konstant virkende Farvepulver, har jeg udelukkende benyttet dette til mine senere Undersøgelser.

Resumé:

Den af Wright angivne Farvevæske fremtræder under 4 mere eller mindre forskellige Former. Forsøg paa Fremstilling af disse maa fraraades. Til de fleste histologiske Undersøgelser har jeg benyttet »W. Farbe« (Grübler).

Den af Wright angivne Farveteknik synes ikke som saadan i nævneværdig Grad at være Aarsagen til de Vanskeligheder, der har været forbundet med Benyttelse af Wrights Metode. Fixationsspørgsmaalet har derimod den største Betydning.

Farveopløsningen skal have en ganske bestemt Alder (4—14 Dage) for at være brugbar.

Tydelig elektiv Farvning af Megakaryocytgranula i Snitpræparater synes at være betinget af eosinsurt Azur.

METODE TIL ELEKTIV FARVNING I SNITPRÆPARATER AF MEGAKARYOCYTERNES AZUROFILE GRANULA.

Paa Grundlag af de i de foregaaende Afsnit omtalte Fixations- og Farvningsforsøg fremtræder den af mig anvendte Metode i den nedenfor anførte, gennemprøvede Form.

Fremgangsmaaden har fundet Anvendelse til næsten alle mine histologiske Undersøgelser.

Som Materiale er benyttet: Lunge, Lever, Nyre, Milt, Lymfeglandler og fortrinsvis Knoglemarv fra Mennesker og Kaniner (sj. fra Mus og Katte). Vævsstykkerne er, paa faa Undtagelser nær, fixeret legemsvarme, naar de stammede fra Dyr. Fra Mennesker er Materialet taget indtil 36 Timer efter Dødens Indtræden; Ligene har det meste af denne Tid været henstillet i Kølerum (2—4°).

Organstykkernes Størrelse og Tykkelse har, ligesom Knoglemarvsstykkerne, naar de stammede fra Mennesker, haft Dimensioner som en

1 Øre. Paa Kaniner (voksne eller halvvoksne) udtog jeg, i saa hel Tilstand som mulig, Knoglemarvscylindren i 1 cm. lange Stykker.

Fixationsvæske: Müllers Væske gram 100
Sublimat gram 20

Müllers Væske bringes til Kogepunktet, hvorefter Saltet opløses heri. Det hvide, groft krystallinske Bundfald, der samler sig ved Afkølingen, frafiltreres ikke. Fixationen foretages i 24 Timer i rigelig Væskemængde ved almindelig Stuetemperatur.

Udvanding i rindende Vand i 24 Timer. Er Vævsstykkerne særlig skrøbelige, eller stammer de fra forskellige Individer, indbindes de hver for sig i smaa Gazeposer; Knuders og Sløjfers Antal paa Snorene tjener som Numerering.

Afvanding: i stigende Alkoholstyrker (ca. 70 % Alkohol i 24 Timer, 96 % Alkohol i 24 Timer, 99 % Alkohol i 24 Timer).

Klaring i Xylol i 4 Timer. I Paraffinovn (55°) i 4 Timer. Snittykkelse: 4 og 5 μ.

Snittene rettes ud paa Vandbad (ca. 30°) og opfanges paa Objektglas. Disse er forud besmurt med et ensartet, tyndt Lag Æggehvide-Glycerin, og opvarmet over Flamme indtil hvide Dampe begynder at vise sig. Præparaterne aftrykkes ikke med Filtrerpapir, før de henlægges i Thermostat (37°) i 24 Timer.

Afparaffinering i Xylol, hvorefter Snitpræparaterne passerer 99 % Alkohol og Vand; 2 Hold af hver. Herpaa følger Aftrykning med glat Filtrerpapir.

Farvning: en Opløsning af Wrights Farvestof (faas i Pulverform fra Grübler) i chemisk rent Metylalkohol (10 ctgr.: 60 cm³ = mættet Opløsning), fortyndes med lige Dele destilleret Vand.

Farveopløsningen skal være mellem 4 og 14 Dage gammel. Fortyndingen med Vand foretages umiddelbart før Brugen, idet den metylalkoholiske Opløsning afmaales først; Farveblandingen paahældes Objektglasset.

Farvningstid: 6 Minutter ɔ: indtil begyndende Metalglans ses langs Randen af Farvevæskelaget.

Afskylning med Vand: højst 1 Minut. Aftrykning med glat Filtrerpapir.

Afvanding ved Neddypning i chemisk ren Aceton: 1 Minut.

Klaring: ved Neddypning først i en Blanding af chemisk ren Aceton og chemisk ren Terpentinolie (1 : 9) 1 Minut, derpaa i chemisk ren Terpentinolie, hvori Præparatet bliver staaende i 3 Minutter.

Aftrykning med glat Filtrerpapir.

Indlejring i tyndflydende Terpentin-Colofonium. Dækglassene bør være omhyggeligt rensede (i Opløsning indeholdende 1 % Chrom- og 1 % Svovlsyre, efterfulgt af Udvaskning i Vand) og tørrede.

Til Mikroskopien anvendes elektrisk Lys og Skomagerkugle.

Da Præparaterne er lidet holdbare, maa de opbevares udelukket fra Lys og paa et køligt Sted.

Mere overskuelig opstillet vil Fremgangsmaaden være følgende:

smaa, tynde Vævsstykker,
»Sublimat-Müller«, 24 Timer,
rindende Vand, 24 Timer,
Alkohol: ca. 70 %, 96 %, 99 %, 24 Timer i hver.
Xylol: 4 Timer,
Paraffinovn: 4 Timer,
Snittykkelse 4 og 5 μ.
Xylol, 99 % Alkohol, almindeligt Vand (2 Hold af hvert),
Aftrykning med glat Filtrerpapir.
Wrights Farveopløsning (10 ctgr.: 60 cm³) 2 Dele, fortyndet med destilleret Vand 1 Del: i 6 Minutter.
Alm. Vand: 1 Minut,
Aftrykning med glat Filtrerpapir,
Aceton. puriss. 1 Minut,
Aceton. puriss. + Ætherol. terebinth. puriss. (1 : 9) 1 Minut,
Ætherol. terebinth. puriss. 3 Minutter,
Terebinthin — Colofonium.

Snitpræparaternes Udseende er følgende:*

Samtlige Vævselementer er tilfredsstillende bevaret. Skrumpningen af Præparatet er derimod i sin Helhed temmelig stor (indtil en Trediedels Formindskelse).

*) sml. Farvetavlerne.

Kærner farves alt efter Cellearten: mørkeblaa, lyseblaa, lilla, graablaa. Kromatin og Nukleoli fremtræder tydeligt.

Protoplasma er i de ugranulerede, mindre Marvceller (samt, hvor dette i de granulerede lader sig se): lys gulligt — graablaat;
i Erythrocyter: gyldent — orange, Erythroblasternes Protoplasma: lyst, gulbrunt;
i granulerede Megakaryocyter: lyst, gulbrunt — graaligt;
i ugranulerede Megakaryocyter: graat — graablaat.

Granula: azurofile: rubin-ceriserøde,
eosinfile: gyldne — dannebrogsrøde,
pseudoeosinofile (neutrofile): rødbrune,
basofile: sorte — sorteblaa.

Samtlige Granula fremtræder skarpt konturerede, mere eller mindre regelmæssige og, rettende sig efter Cellearten, af forskellig Størrelse.

Bindevæv: det fibrøse: graablaat — rødlilla, det elastiske: rødlilla, meget skarpt kontureret, specielt ved let Overfarvning.

I Karrene ses foruden Erythrocyter, Leukocyter og grynede Masser tillige smaa, ensartede ugranulerede Formelementer. Jeg skal senere omtale disse nærmere og her blot nævne, at jeg straks antog dem for Blodplader.

Intetsteds i Karrene har det ladet sig gøre, ved normal Farvningstid, at se Elementer, der viser fuld Overensstemmelse med Blodplader, saaledes som de kendes fra almindelige Blodudstrygningspræparater, eller som de i Snitpræparater er blevet beskrevet af Wright o. a.

Celledelingsfigurernes Kromatintraade fremtræder tydeligt. I et mindre Antal Tilfælde har jeg i granulerede Celler kunnet iagttage den achromatiske Figur og bestemme Vinklen (60—70°).

Medens de fleste tidligere angivne Metoder til Granulafarvning i Snitpræparater kun har bragt de eosinofile Granula til at træde tydeligt frem, har *Ellermann* ved sin i 1919 angivne Metode løst Spørgsmaalet om Farvning af neutrofile Granula. Denne Fremgangsmaade tager imidlertid ikke Sigte paa Farvning af azurofile Substanser. Granula af denne Art kan overhovedet ikke træde særlig stærkt frem i Præparaterne, idet der efter selve Farvningen anvendes baade

100 % Alkohol og Xylol. Disse to Væsker virker efter Wrights Angivelser lige kompromitterende for Azurfarvningen.

Den elektive Megakaryocytfarvning betinges imidlertid ikke udelukkende af Fixationsmaaden. Materiale, fixeret a. m. Ellermann, har saaledes en sjælden Gang med den af mig angivne Farvning og Viderebehandling, givet ret distinkte blaalilla — rødlige Granula i Megakaryocyterne.

Foruden at de azurofile Megakaryocytgranula farves elektivt, viser de smaa Marvcellers Granula, efter Benyttelse af min Farvemetode, et lignende Udseende, som i Præparater behandlet a. m. Ellermann.

Metoden yder langt mere end Wrights, baade med Hensyn til Megakaryocytfarvningens Art og Intensitet, samt i Sikkerhed og Evne til Nuancering af de andre Marvelementer. At dømme efter Wrights Billeder, har han, ligesom jeg ved mine første Forsøg med Sublimatfixation, kun faaet Farvning af de eosinofile Celler.

Den af mig benyttede Fremgangsmaade lader sig anvende overfor Vævsstykker samt Udstrygningspræparater af Knoglemarv og Blod. (fugtigt fixeret). Endvidere lader den sig kombinere med Vitalfarvning (intravenøs Injektion af Trypanblaat).

Overfor Frysesnit er Metoden ogsaa blevet prøvet. Denne Form for Vævsbehandling bør hæmatopoietiske Organer imidlertid ikke udsættes for.

Flygtigt set kunde det betragtes som en Ulempe, at Blodplader i Snitpræparaterne ikke fremtræder, som de kendes fra Blodudstrygningspræparater. Dette Forhold skal jeg senere komme udførligt ind paa.

Det er ubehageligt, at Snitfarven er temmelig uholdbar. Dette Forhold er iøjnefaldende i Sammenligning med mine oprindelige, sublimatfixerede Snitpræparater; jeg formoder, at Chromet bærer Skylden herfor. At ville gøre Forsøg paa at fjerne eventuelle Spor heraf ved yderligere Udvanding, bør dog fraraades, idet Granula herved efter den paafølgende Farvning fremtræder blegere, end det er heldigt. Det maa endvidere fremhæves, at foruden Megakaryocyternes Granula farves ogsaa enkelte andre Cellebestanddele ceriserødt. Ved den almindelig benyttede Farvningstid ses ikke sjældent en centralt beliggende,

lille, rød Granulahob i visse, ret faatallige, smaa granulerede Marvceller. Efter selv let Overfarvning antager ogsaa Bindevævet røde Farvetoner.

Ved at benytte den tidligere anførte, kortest mulige Farvningstid, vil i det store og hele Metoden dog kunne regnes for at farve Megakaryocyternes Granula elektivt.

I

UNDERSØGELSER OVER WRIGHT-TEORIENS HISTOLOGISKE GRUNDLAG

I.

UNDERSØGELSER OVER WRIGHT-TEORIENS HISTOLOGISKE GRUNDLAG.

En Redegørelse for de histologiske Fund, der danner Grundlaget for Wrights Blodpladeteori maa, hvadenten det gælder de tidligere anstillede Iagttagelser eller Resultaterne af mine Undersøgelser, nødvendigvis falde i flere Afsnit.

Først og fremmest vil de ejendommelige Megakaryocytfigurer i de bloddannende Organer tiltrække sig ens Opmærksomhed. Baade deres Udseende, Opstaaelsesmaade, Hyppighed samt, hvorledes de i deres Bygning synes at røbe selve Mekanismen ved Blodpladedannelsen, vil blive analyseret. Den særlige Form for Gruppering af Megakaryocyternes Granula, der betegnes »Felderung«, vil ligeledes nøjere blive undersøgt. Fremdeles skal jeg omtale, hvorvidt den specifike Megakaryocytfunktion ogsaa kommer til Udfoldelse, naar Cellerne er gaaet over i Kredsløbet.

Der vil endvidere være Anledning til navnlig i Snitpræparater at undersøge den af Wright paapegede Identitet mellem Megakaryocytafsnøringsprodukterne og Blodpladerne. Dette bliver nærmest et Spørgsmaal om Farveligheden af det sidstnævnte Formelement.

For yderligere at søge Forholdene klarlagt vedrørende Megakaryocyternes Betydning for Blodpladedannelsen, er jeg kommet ind paa Omtalen af de granulerede Megakaryocyters Systematisering samt disse Cellers Skæbne.

De sidstnævnte Problemer skal jeg kun komme ind paa i en Udstrækning der svarer til, hvad jeg regner falder indenfor dette Arbejdes Ramme.

OM UREGELMÆSSIGT FORMEDE MEGAKARYOCYTER, DE SAAKALDTE WRIGHTSKE FIGURER.

Tidligere Undersøgelser.

Næsten uden Undtagelse har de Tilhængere af Wright-Teorien, der har beskæftiget sig med histologisk Undersøgelse af de bloddannende Organer, kunnet bekræfte Eksistensen af de ejendommelige Megakaryocytfigurer. De har tillige sluttet sig til den Forklaring, der fra første Færd er blevet givet af disse Billeders Fremkomst og Betydning.

De Wrightske Figurer skal kunne forekomme i de bloddannende Organer baade hos Fostre og i det extrauterine Liv, samt i Cirkulationen under pathologiske Tilstande.

Det skal anføres, at *Schridde* oprindelig (1907) ikke formaaede at konstatere de Wrightske Figurers Tilstedeværelse i Snitpræparater fra Knoglemarv (Menneskemateriale). *Bunting* og *Ogata* tilskrev dette negative Fund den Omstændighed, at han havde benyttet Ligmateriale. I en senere Afhandling (1911) er det dog lykkedes *Schridde* at verificere Wrights Fund.

Cesaris Demel (1914—1919) har en Tid i Enkeltsnit haft Vanskelighed ved at se typiske Wrightske Figurer.

Hverken *Naegli* (1914) eller *Oelhafen* (1914) kunde i Udstrygningspræparater af megakaryocytholdigt Blod paavise de karakteristiske Megakaryocytfigurer.

Wright Teoriens Modstandere har enten ikke kunnet paavise Megakaryocytfigurerne, eller søgt at bortforklare disses blodpladedannende Funktion. *Perroncito* (1920 og 1921) betragter dem f. Eks. som Tegn paa Blodpladeadhæsion eller Fagocytose. Denne Opfattelse er dog blevet imødegaaet af *Di Guglielmo.*

Ifølge *Ferratas* og *Negreiros-Rinaldis* Opfattelse bør visse af de Megakaryocytfigurer, *Foà* afbilder i sin Afhandling (1899), opfattes som en Art Wrightske Figurer.

Medens det har interesseret nogle at bestemme det absolutte Megakaryocyttal i Knoglemarven, synes ingen at have gjort Forsøg paa nøjagtigt at fastslaa Antallet af de Wrightske Figurer. Dette maa i høj Grad undre én, eftersom disse Celleformer afspejler Blodplade-

dannelsens Intensitet i det Øjeblik, Dyret dør. De Opgivelser, man derfor møder paa dette Omraade, er ubestemte. *Wright* har saaledes angivet, at »nogle« eller »et Mindretal« af de granulerede Megakaryocyter (hos normale Kattekillinger) danner Blodplader.

Ferrata og *Negreiros-Rinaldi* fandt kun sjældent i normal Knoglemarv den særlige Form for Megakaryocyter, der saa godt som udelukkende bestaar af blodpladelignende Masser.

Som Tegn paa øget Blodpladedannelse har man under forskellige Forhold iagttaget Tiltagen af de Wrightske Figurers Antal. Dette har saaledes ladet sig se: ved Kvælning *(Cesaris-Demel)*, ved experimentel Blødningsanæmi *(Ogata)*, efter Pyrodin- og Blyinjektion *(Ferrata* og *Negreiros-Rinaldi)*, efter toxiske Paavirkninger, Aareladning eller sterile Betændelser *(Bunting)* (i Tilslutning til Abscesdannelse saa *Downey* 2—3 Wrightske Figurer pr. Snit fra proximale Del af Femurs Marv), ved Aareladning, Pyrodininjektion, Injektion af Stafylococcus pyogenes aureus *(Foá, Cesaris Demel)*, efter Saponininjektion og Defibrinering af Forsøgsdyrenes Blod *(Firket)*, efter Injektion af Elektroferrol *(Wittkower)* eller Pepton *(Seeliger)*, ved Hodgkins Sygdom *(Bunting)* og Blodsygdomme *(Di Guglielmo* m. fl.).

Ved Gennemgang af de Arbejder, der er fremkommet siden Wright opstillede sin Hypothese, opdager man, at lidt forskellige Opfattelser har gjort sig gældende med Hensyn til de ejendommelige Megakaryocytfigurers Udseende samt selve Mekanismen ved Blodpladedannelsen.

Teorien synes lidt efter lidt at være blevet udstyret med visse »Forbedringer«, idet nye Iagttagelser eller Forklaringer er føjet til. Disse svarer imidlertid ikke alle til den Maade, hvorpaa Wright oprindelig tænkte sig, at Blodpladedannelsen foregik.

Den Vægt, man bør tillægge de Erfaringer, der gennem Tiderne har ladet sig indhøste, er forskellig, eftersom den ene eller anden Undersøgelsesmetode er blevet bragt til Anvendelse.

De Wrightske Figurer er saaledes dels blevet undersøgt i Udstrygningspræparater, dels i Snitpræparater.

Skal hæmatologiske Undersøgelser kunne foretages paa fuldt kor-

rekt Grundlag, bør man betjene sig af paalidelige Snitfarvemetoder.

Heraf fremgaar det, at de Oplysninger, man tidligere har faaet paa Grundlag af Snitpræparater behandlede a. m. Wright paa Forhaand maa anses for mest værdifulde. Undersøgelser, baseret paa Udstrygningspræparater, maa regnes for i høj Grad at være behæftet med Mangler. Vævenes normale Struktur vil i større eller mindre Grad være gaaet tabt ved Udstrygningen, ligesom man næsten altid faar et ukorrekt Indtryk af Cellernes Morfologi. Beviskraften af de Erfaringer, der er indvundet ved den sidstnævnte Metode, maa derfor, hvadenten de taler for eller imod Wrights Hypothese, drages i Tvivl.

Dette Arbejde er udelukkende baseret paa Snitpræparatundersøgelse, hvortil er benyttet elektiv Farvemetode.

Efter Wrights Beskrivelse vil man kunne fastslaa følgende Faser i Megakaryocyternes blodpladedannende Funktion:

Udsendelse af Protoplasmaforlængelser,

Gruppering af Granula,

Afgift af blodpladelignende Legemer til Kredsløbet.

Man har her at gøre med de 3 Grundelementer i de Wrightske Figurers Bygning.

Wright har ikke direkte meddelt, hvilken af de to førstnævnte Processer, der tidligst giver sig tilkende. Efter Beskrivelserne at dømme maa Pseudopodiedannelsen dog antages for det primære. Baade Granulagrupperingsfænomenet og Blodpladeafgiften bliver saaledes efter Wrights Mening henlagt udenfor den oprindelige regelmæssigt formede Celles Begrænsning.

Ifølge Wrights Tanke om Mekanismen ved Blodpladedannelsen maa Granulagrupperingen enten være en Funktion af selve Cellen (»Sekretion?«) eller en Agglutinationsevne, som modne Megakaryocyters Granula besidder.

Granulaanordningen i Megakaryocyternes Protoplasma er det centrale i Teorien. Udsendelsen af Pseudopodier, der baner sig Vej ind i Blodbanen, er kun Midlet til at afgive Granulahobe til Cirkulationen.

Meningerne om, hvor og hvorledes Pseudopodieafgiften finder Sted, har været noget afhængige af de Opfattelser, man har haft med Hensyn til Megakaryocyternes Lejring i Vævet paa det Tidspunkt, da den blodpladedannende Funktion blev paabegyndt. Pseudopodierne

skulde efter nogles Mening udelukkende dannes extravaskulært, efter andres Opfattelse kun intravaskulært eller paa begge Maader.

Protoplasmaforlængelsernes Størrelse og Form skal efter Beskrivelserne kunne være meget vekslende: store, smaa, plumpe, spidse eller takkede (Ogata). I Knoglemarv, hvor der udfoldes særlig Aktivitet, er Celleforlængelserne paafaldende tykke og lange.

Pseudopodierne skal ogsaa kunne findes i Lungekapillærerne (Bunting), et Fund, der skal være blevet bekræftet ved Udstrygningspræparater af Blod.

Undertiden beskrives Megakaryocyternes Protoplasma som »frynset«, indeholdende stjerneformede Vakuoler. Cellelegemet ser i saadanne Tilfælde ud, som om det bestod af uregelmæssige Protoplasmamasser, hver med centralt beliggende Granulagruppe. Nogle af de mindre Fragmenter skal i Størrelse og Struktur være identiske med Blodpladerne i Karrene *(Downey)*.

Foruden den Maade, hvorpaa Wright har beskrevet Granulagrupperingen, har senere Undersøgere tillige gjort en anden Opfattelse gældende. Man har saaledes set regelmæssigt formede Megakaryocyter mere eller mindre opfyldt af blodpladelignende Legemer. Saadanne Celler siges at opvise »Felderung«, hvilket er blevet set som Udtryk for en intracellulær Blodplademodning.

Med Hensyn til Granulagruppernes Lokalisation indenfor Kæmpecellerne indtager de forskellige Undersøgere eet eller flere af de nedenfor nævnte Standpunkter.

Sammenhobningen af Granula kan finde Sted: enten kun i Pseudopodierne, »Perlekæder«, der falder hen (»extracellulær« Blodpladedannelse) *(Wright, Downey, Ogata, Cesaris-Demel)*, eller indenfor den regelmæssigt begrænsede Celle, »Felderung«, *(Downey, Seelinger)*, eller ogsaa paa begge de ovennævnte Maader, eventuelt med visse Modifikationer. »Felderung« siges saaledes bl. a. at kunne optræde baade før og efter Pseudopodierne er blevet dannet, (Granulagrupperne frigøres dog kun i Pseudopodierne (Ogata)) *(Ferrata* og *Negreiros-Rinaldi, Foá, Di Guglielmo, Cesaris-Demel, Minot, Reitano, Klaschen* og andre).

Det skal tilføjes, at *Cesaris Demel* (1924) mener, at den tidligere Opfattelse af Blodplademdifferentiationen bør modificeres. Denne

finder ikke Sted ved en direkte cellulær Proces. Efter hans Mening foregaar Blodpladeafgiften ved Løsning af Blodplasmapræcipitater, der er udfældet i Lag omkring Præmegakaryocyternes tynde Protoplasmaforlængelser.

Den, der uden forudfattet Mening og blottet for Kendskab til de ejendommelige Megakaryocytfigurer, gennemgaar Wrights Redegørelse for Teoriens tilgrundliggende histologiske Fund, samt nøjere betragter de vedføjede farvelagte Tavler, vil uvilkaarlig standse ved visse af de fremsatte Iagttagelser.

Der træffes saaledes vekslende Angivelser, forhastede Slutninger samt Oplysninger, der ikke helt synes at være i Overensstemmelse med de Begreber, man i Almindelighed møder med om Megakaryocyternes og Blodpladernes Morfologi. Det ser tillige ud, som om der, mere eller mindre bevidst, er blevet foretaget visse Spring i Bevisførelsen, for at kunne samle de enkelte Iagttagelser til en Helhed: Teorien.

Naar Hypotesen alligevel i saa mange Aar har virket overbevisende, skyldes det, at man, i Mangel af en anden og bedre Forklaring, fristes til at lade de smaa granulerede, kærneløse Legemer, Blodpladerne, være Derivater af de store Megakaryocyters Protoplasmaforlængelser.

Allerede det Forhold, at een Celleart skulde kunne give Anledning til Dannelse af et helt andet, velkarakteriseret, ensartet Formelement med anden Bygning og andre Egenskaber, maa anses for enestaaende i Biologien. Man studser tillige, naar det oplyses, at Blodplader kun synes at forekomme i Snitpræparater af visse Organer, og at de navnlig i Knoglemarven er paafaldende faatallige.

Wright har i Knoglemarvskarrene kunnet paavise de uregelmæssige, mere eller mindre frigjorte Megakaryocytafsnøringsprodukter. Disse granulerede Legemer har han paa den ene Side søgt at bringe i Forbindelse med Blodplader, saaledes som de er kendt fra Blodudstrygningspræparater, paa den anden Side med de uregelmæssigt formede Megakaryocyter.

For at kunne faa denne genetiske Samhørighed i Stand, har Wright imidlertid maattet indføre visse Hjælpefaktorer.

Pseudopodierne er af højst forskellig Længde og Tykkelse, mere eller mindre segmenterede, ikke sjældent ensartet granulerede.

Ifølge Wrights Opfattelse er det imidlertid kun forbeholdt de Pseudopodier at danne Blodplader, der i Tykkelse omtrent svarer til Blodpladediameteren. Herved forudsættes ikke alene et vist regulerende Moment, men der tilkendes Megakaryocyterne stor selvstændig Aktivitet. Af hvilken Art denne skulde være, lader sig vanskeligt forstaa.

Paa den anden Side synes de Granulahobe, der ligger i Nærheden af Megakaryocyterne, at være af højst forskellige Dimensioner og Former. At nydannede Blodplader skulde kunne opvise saa store Variationer, passer daarligt med den Ensartethed i Størrelse og Form, dette Formelement normalt udviser i Tællekammer og i Udstrygningspræparat. Wright-Teoriens Tilhængere har derfor antaget, at Granulahobene blev tildannet under deres videre Ophold i Blodbanen. For tillige at forklare den Forskel, der som Regel findes paa de enkelte Granula i de to Formelementer, anvender bl. a. *Naegeli* og *Sceliger* Begrebet Modningsproces.

Foranlediget af de Forandringer, Megakaryocyterne skulde undergaa samtidig med Blodpladedannelsen, har man systematiseret Kæmpecellerne. Det vil imidlertid aldrig kunne være korrekt alene udfra Undersøgelser af normalt Materiale at sammenstille visse Celleformer til eet System. Først ad Experimentets Vej vil man kunne faa Oplysninger om Cellernes Art, Alder og indbyrdes Forhold. Fordi der lader sig se protoplasmafattige Celler og mørktfarvede Kærner, vil det ikke kunne anses for en Kendsgerning, at Megakaryocyterne mister Protoplasma. De »nøgne« Kærner vil lige saa godt kunne være unge, som »udslidte«, gamle.

Det maa fremdeles forbavse, at Celler, der ved Blodpladedannelse har mistet næsten alt deres Protoplasma, skulde søge ind i Kredsløbet for her at falde hen, i Stedet for at opløses paa Stedet, extravaskulært.

At Megakaryocyternes og Blodpladernes Granula hidtil synes at have vist sig identiske, i hvert Fald med Hensyn til Farvning, taler ikke afgørende for genetisk Samhørighed. Ved endnu ikke prøvede Fremgangsmaader kunde det tænkes, at visse Forskelligheder lod sig afsløre.

Egne Undersøgelser.

I dette Afsnit vil der blive gjort Rede for de Iagttagelser, jeg har gjort over de uregelmæssigt formede Megakaryocyter, der af Wright sættes i Forbindelse med Blodpladedannelsen.

Materialet har været bloddannende Organer fra Mennesker, Kaniner, Katte og Mus. Da ensartede Forhold synes at gøre sig gældende baade hos Mennesker og Dyr med Hensyn til de Wrightske Figurers Morfologi, skal jeg kun omtale de Fund, der er blevet gjort i Knoglemarv fra Kaniner.

Ved Benyttelse af Ellermanns Snitfarvemetode dannede jeg mig et foreløbigt Skøn over disse Celleformer.

Først og fremmest søgte jeg Oplysning om, hvor let de Wrightske Figurer lod sig konstatere i det Materiale, jeg ønskede at lægge til Grund for Undersøgelserne, samt hvor tydeligt Megakaryocyternes blodpladedannende Funktion i de enkelte Tilfælde gav sig tilkende.

Det kunde tænkes, at Megakaryocyterne var saa sjældne, at der maatte kræves omfattende Eftersøgning for at paavise dem. Det Antal Blodplader, der efter alt at dømme daglig skal produceres, kunde muligvis stamme fra faa, meget aktive Celler, som det da gjaldt om at finde. Paa den anden Side kunde visse Ejendommeligheder i Megakaryocyternes Lejring og Fordeling maaske byde én gunstigere Betingelser for Undersøgelse i det ene end i det andet Knoglemarvsafsnit.

Uregelmæssige Megakaryocytfigurer, der maa anses for identiske med de af Wright iagttagne, lod sig temmelig nemt finde. Med Hensyn til de Wrightske Figurers Antal henvises til Afsnittet om Megakaryocyttælling. Knoglemarv fra unge Dyr var særlig egnet til Undersøgelse, idet de Wrightske Figurer hér fremtraadte i pæne Eksemplarer og som Følge deraf var mest iøjnefaldende.

De finere Detailler i de uregelmæssigt formede Megakaryocyter lod sig imidlertid ikke fremstille med fuld Klarhed efter Ellermanns Metode. Først ved at anvende den af mig angivne, elektive Megakaryocytfarvning, kunde jeg vente Oplysninger herom.

I Snitpræparater fra Knoglemarv paabegyndte jeg nu en indgaaende Analyse af Wrights Megakaryocytfigurer: deres Bygning, deres Forhold til Karrene, hvorledes de kan tænkes at være opstaaet, samt de

histologiske Ejendommeligheder, som mere eller mindre frigjorte Blodplader frembyder.

Til en Begyndelse undersøgte jeg Enkeltsnit paa 4 og 5 μ's Tykkelse.

Præparaterne stammede fra tilfældigt valgte Steder i Femurs Marv, og Snitretningen var varierende.

De Wrightske Figurers Antal er, som andet Steds anført, normalt ret ringe pr. Snit (2 à 3), og de uregelmæssige Celler viste sig langt fra alle at være fordelagtigt ramt. Heraf forstaar man, hvor forholdsvis vanskeligt det har været at finde Figurer, som var ramt i Overensstemmelse med, hvad jeg kendte fra Farvetavlerne i de forskellige Afhandlinger (sml. Cesaris-Demel 1924).

Paa den anden Side tillod den elektive Farvning mig altid let i Præparaterne at finde de azurofilt granulerede, rubin-ceriserøde Megakaryocyter samt større eller mindre Fragmenter deraf.

I Stedet for at opnotere Beskrivelser af hver enkelt Celles Ejendommeligheder tegnede jeg de forskellige Megakaryocytfigurer. Senere kunde jeg derfor med større Sikkerhed drage Sammenligning mellem de enkelte Fund.

Navnlig i Begyndelsen forekom de Wrightske Figurer mig at være saare forskelligartet byggede. Det blev mig imidlertid snart paafaldende, hvor stor Ensartethed, der alligevel gjorde sig gældende. Forekomsten af de vekslende Billeder syntes saaledes i mindre Grad at være foraarsaget af Variationer i selve Figurernes Anlæg, end ved Ændringer i den Maade, hvorpaa de uregelmæssigt formede Megakaryocyter var blevet ramt i de forskellige Snit.

I visse Megakaryocytbilleder kunde spores fælles Træk, og ofte lod eet Fund sig supplere af andre.

Jeg fik paa denne Maade Lejlighed til at faa en Samling Tegninger, der viste de Wrightske Figurer ramt i højst varierende Planer svarende til større eller mindre Tangentialsnit. Det blev herved muligt efterhaanden at danne sig et Skøn over disse Celleformers finere Bygning.

Sammenlignede jeg saaledes Billeder af Celler, ramt i Længderetningen, med en Række Snit, lagt i disses Tværretning, blev jeg for-

trolig med Udseendet af de Magakaryocytfigurer, der har dannet Grundlaget for Wrights Teori.

I det følgende skal jeg beskrive de Wrightske Figurer, saaledes som de fremtræder i tynde Enkeltsnit (Farvetavle 4 og 5).

Udfor granulerede Megakaryocyter, af lidt forskellig Størrelse, træffer man af og til i de tyndvæggede Kar en vifteformet eller paddehatlignende Dannelse, der er uregelmæssig tunget eller flosset. Paa sit bredeste Parti indtager denne $\frac{1}{2}$—$^2/_3$ af Karrets Diameter. Figuren grænser op til Karrets Inderside efter en temmelig lige Linie samt prominerer i Karlumen, mere eller mindre konvext begrænset. Denne ejendommelige Dannelse bestaar af en Samling, større eller mindre, granulerede Legemer, der ligger Side om Side, mindende om Mosaik. Granulahobene er kantede eller afrundede, kommaformede, ovale, aflange eller pølseformede, undertiden s-formigt krummede. Op imod Karvæggen kan de være tæt sammentrængte, ligesom modellerede efter den ret sparsomme Plads, der er levnet dem hver især. Indbyrdes holdes Grupperne adskilt af ugranulerede, graa-gullige Strøg.

Jo mere man nærmer sig Karlumens Midte, i desto højere Grad øges som Regel Afstanden imellem Granulahobene. Foruden den ovenomtalte granulafrie Zone, vil der nu kunne ses ufarvede, uregelmæssige Partier svarende til, at Karrets Lumen bliver synligt imellem Protoplasmadelene.

Langs Periferien af disse Figurer findes undertiden smaa, »hyaline«, tæt sammenstillede, kolbeformede Dannelser, som Regel af Farve som Randzonen, hvorfra de udgaar.

Konvexiteten af den vifteformede Figur naar, som tidligere nævnt, næsten aldrig Karvæggen paa modsat Side, hvorfor der næppe bliver Tale om Kartillukning. Har Snittet imidlertid ikke ramt i Karrets største Plan, vil den intravaskulære Figur paa en kortere Strækning kunne synes fuldstændig at udfylde Karret.

Den granulerede Masse vil som oftest tillige være strakt noget ud i Karrets Længderetning, naaende et kortere eller længere Stykke oven- og nedenfor det Sted, hvor den tilsvarende Megakaryocyt ligger i det extravaskulære Væv.

I de vifteformede Dannelser træffes ikke saa sjældent fingerformede Granulastrøg, der undertiden synes at være en direkte Fortsættelse af Megakaryocyternes Protoplasma. I det hele taget maa den intravaskulære Figur antages at staa i en vis Relation til den »juxtavaskulært« lejrede Megakaryocyt og, efter alt at dømme, være en Del deraf.

Kærnen i disse ovenomtalte Celleformer kan være større eller mindre, enten lys kransformet eller mørk, ligesom kannelleret.

Medens Hovedmængden af de Wrightske Figurer frembyder det beskrevne Udseende, træffer man af og til Megakaryocyter, der synes noget enklere bygget. Kærnen er temmelig lille, rund eller oval, meget mørk og solid, undertiden med en Tegning, mindende om Bikager. Det granulerede Protoplasma er i saadanne Celler sparsomt tilstede og, ligesom hos de fleste andre Megakaryocyter, omgivet af en hyalin Zone af temmelig konstant Bredde. Udfor disse Kæmpeceller findes i Karret kun enkelte mindre, isolerede Granulahobe eller en meget lille vifteformet Figur. En sjælden Gang har jeg haft Held til at følge een, højst to Protoplasmaforlængelser gennem Karvæggen. Udfor Spidsen af saadanne fingerformede, stumpe, ofte koniske Pseudopodier saas faa isolerede Granulalegemer, hvert omgivet af et hyalint Randparti.

I Milten har jeg fundet den sidst beskrevne Celleform, derimod aldrig de store, sammensatte, vifteformede Wrightske Figurer.

Paa et begrænset Parti i et Kar har jeg endvidere fundet blodpladelignende Granulahobe. Disse havde tilsyneladende ingen Forbindelse med Megakaryocyter, idet Celler af denne Art i de givne Tilfælde manglede i vid Omkreds. Granulahobene optraadte enten samlede i een stor Gruppe eller laa i ringe Antal langs Karrets Væg.

Fremdeles fandt jeg undertiden uregelmæssigt formede Megakaryocyter, der tilsyneladende var lejret helt extra- eller intravaskulært. En sjælden Gang havde jeg endvidere Lejlighed til at se regelmæssigt begrænsede Megakaryocyter, der indenfor et større eller mindre Omraade af Cellelegemet rummede Grupper af Granula, indbyrdes adskilte af »hyaline« Strøg. Saadanne Celler svarer til de, der er beskrevet som Megakaryocyter med »Felderung« (eller »Campeggiamento«), en særlig Form for Granulaanordning.

Resumé:

I Enkeltsnit paa 4 og 5 μ's Tykkelse har jeg kunnet konstatere Tilstedeværelsen af uregelmæssige Megakaryocytfigurer, samt mere eller mindre isolerede, blodpladelignende Granulahobe. I Lejring og Bygning svarer disse fuldtud til de af Wright og mange andre beskrevne.

De Wrightske Figurer kan optræde under forskellige Former, idet de enten er »enkle« eller »sammensatte«. Tidligere Undersøgere synes ikke at have bemærket denne Forskellighed.

Efter disse Iagttagelser kunde det ikke betvivles, at Megakaryocyterne var i Stand til at danne de af Wright og Tilhængere beskrevne Figurer.

Ved de anstillede Undersøgelser undrede jeg mig imidlertid i nogen Grad over, hvorvidt den af Wright fremsatte Forklaring af de fundne Billeder var korrekt. Visse Forhold ved Megakaryocyternes Morfologi syntes mere og mere at gøre en nøjere Analyse paakrævet, og der maatte især blive Tale om at undersøge:

Pseudopodiernes Udseende,

Granulagrupperingen, baade i og udenfor Megakaryocyternes Begrænsning (herigennem vilde jeg komme ind paa Omtalen af de mange Overgange, der efter Wrights og andres Angivelser skulde findes mellem: ensartet granuleret Protoplasma i Megakaryocyterne, Kæder af blodpladelignende Granulahobe og isolerede Blodplader), samt

de færdigdannede, frie Blodpladers Udseende, hvad enten de var beliggende nærmere eller fjernere det formentlige Dannelsessted.

Foreløbig udvidede jeg mine histologiske Undersøgelser til ogsaa at omfatte Snit, hvis Tykkelse var indtil det dobbelte af, hvad jeg tidligere havde benyttet (8—10 μ).

Den øgede Afstand, der herved fremkom mellem Præparaternes Over- og Underflade, var i høj Grad fordelagtig ved Undersøgelsen af visse Detailler ved de Wrightske Figurer. Havde man ramt uregelmæssige Megakaryocytfigurer, kunde Præparater af denne Tykkelse ofte næsten gøre det ud for to Snit i Serie. At de smaa Knoglemarvs-

celler herved kom til at dække hinanden noget, spillede underordnet Rolle, da det væsentlig var den intravaskulært lejrede Del af Megakaryocyterne, der i denne Sammenhæng interesserede mig.

Gennem disse fornyede Undersøgelser af de uregelmæssige Megakaryocytfigurer fik jeg yderligere Øjet op for visse ejendommelige Forhold ved Cellernes Bygning.

Hvor jeg tidligere i de vifteformede Figurer kun havde set granulerede Legemer, der var tilsyneladende sphæriske, røbede disse sig nu ofte som korte Segmenter af cylindriske Granulastrøg. Som finger- eller pølseformede Dannelser lod disse sig ofte følge et kortere eller længere Stykke. Enkelte Gange gik de ved tynde »Broer« over i Kæmpecellens Protoplasma. (Farvetavle 6 d).

I Karrene kunde jeg f. Eks. ved Snittenes Overflade finde Rækker af runde, tilsyneladende isolerede Granulagrupper af forskellige Dimensioner, der enten laa fjernt fra Megakaryocyten eller udfor Protoplasmaforlængelser. Ved vekslende Indstilling viste disse Granulahobe sig dybere i Snitpræparatet at være indbyrdes forbundne ved tynde (i det beskrevne Tilfælde nedad konvexe) Granulastrøg. Disse Forbindelsesbroer havde snart en Tykkelse, der svarede til Gruppernes Diameter, snart var de indtil haarfine.

I nogle Tilfælde mente jeg dog stadig at staa overfor fuldt isolerede Blodplader, idet de granulerede Legemer ved vekslende Indstilling ikke syntes at »løbe« i Præparatet. Fulgte jeg dem imidlertid fra Overfladen af det ret tykke Snit ned mod Objektglasset, røbede de sig altid som vertikalt stillede Segmenter af cylindriske Granulastrøg. De forløb som slanke Legemer, hvis Længde svarede til Snittykkelsen, og røbede saaledes andre Dimensioner end Blodpladerne.

Undersøgelse i tykkere Snit lod mig tillige ane et Sammenhæng imellem Pseudopodierne og den tilsyneladende intracellulære Granulering, der betegnes som »Felderung«, (herom senere).

Helt extra- eller intravaskulært lejrede Megakaryocyter saas ogsaa i disse Snit. (sml. Farvetavle 6 a).

Resumé:

En Del af de saakaldte isolerede Granulahobe, man ser i de Wrightske Figurer, er Segmenter af Protoplasmaforlængelser.

Protoplasmaforlængelserne er, i større Udstrækning end det tidligere er blevet antaget, usegmenterede og udelte.

Nogle af de saakaldte Blodplader er cylindriske Legemer, hvis Længde overstiger Blodpladediameteren, og hvis Tværsnit oftest er større end disses.

Det maa i høj Grad forbavse, i hvor ringe Grad Wright og hans Tilhængere har følt Trang til at revidere de histologiske Funds finere Detailler. Tillige synes man ikke i tilstrækkelig Grad at have haft Blikket aabent for en rumlig Bedømmelse af de Wrightske Figurer, men følt sig bundet til den rent flademæssige Betragtningsmaade.

Ved at sammenligne de ovenanførte Iagttagelser med hinanden faldt det mig ind, at Granulagrupperingsfænomenet, dette saare vigtige Led i Hypothesen om Megakaryocyternes Blodpladeafgift, beroede paa Fejltydninger. Muligvis var den tilsyneladende Sammenhobning af Granula betinget deraf, at de uregelmæssige Protoplasmaforlængelser var blevet ramt paa højst forskellig Maade. De Hobe af blodpladelignende Legemer, jeg baade i tynde og tykke Snit kunde finde paa begrænsede Partier i Knoglemarvens Kar, maatte imidlertid stadig bringe én til at tænke paa isolerede Pseudopodiedele og frie Blodplader.

Jeg fortsatte nu min detaillerede Undersøgelse af de Wrightske Figurer med Benyttelse af Seriesnit paa 4—5 μ's Tykkelse. Dette gjorde jeg dels i den Hensigt at faa et nødvendigt Supplement til mine tidligere anstillede histologiske Undersøgelser, dels for bedre at kunne faa Oplysninger om Pseudopodiernes, Granulagruppernes og de isolerede Blodpladers indbyrdes Forhold.

Meget tynde Snit (2—3 μ) viste sig mindre egnede. Identificeringen af de samhørige Figurer var her fra Snit til Snit saare vanskelig, hvorved Beviskraften af de gjorte Fund svækkedes.

Mærkelig nok er det ikke faldet tidligere Undersøgere af Wrights Teori ind at benytte disse Snit til en i større Stil gennemført Analyse af Megakaryocytforlængelsernes Forhold til Granulagrupperne og af selve Afsnøringsfænomenet. Antagelig bærer de anvendte Farvemetoder meget af Skylden herfor. De finere Granulahobe lader

sig sjældent se tydeligt iblandt de utallige Marvceller, med mindre elektiv Farvning benyttes.

Wright selv synes lige at have berørt Serieundersøgelsesmetoden. I en af Figurforklaringerne (til Afhandlingen 1910) anføres, hvorledes en særlig lang Pseudopodie, hvis Beliggenhed tilsyneladende var fuldstændig fri i Karret, ved Undersøgelse af Nabosnittet viste sig at staa i Forbindelse med en Megakaryocyt i Nærheden. *Cesaris-Demel* meddeler bl. a. i et lige udkommet Arbejde, at han i Seriesnit har fulgt Megakaryocytfigurerne og ganske har kunnet bekræfte Wrights Iagttagelser. *Bunting* (1909) har undersøgt »a series of bone marrow«. Hvad der menes hermed, fremgaar ikke tydeligt af Teksten.

Min Teknik ved Serieundersøgelserne har været følgende:

Med Hensyn til Materialets Art, Fixation og Farvning benyttede jeg den tidligere nævnte Fremgangsmaade.

4 μ tykke Paraffinsnit blev skaaret nøjagtigt paa tværs af Knoglemarvscylinderens Længderetning. Det viste sig hurtigt overflødigt at fremstille lange Serier, idet Rækker paa 8—10 Snit som Regel gjorde god Fyldest. Jeg overvaagede nøje, at Snittene altid vendte den samme Side opad. Med Krydsbord gennemsøgte jeg systematisk Præparaterne. Ved Hjælp af det ved saadanne Undersøgelser absolut nødvendige Maaleapparat, »Finderen«, mærkede jeg mig derpaa de Megakaryocytfigurers Plads i Præparatet, der maatte anses for velegnede til Serieundersøgelse. Hvorvidt de lod sig benytte, afhang dels af Cellens Udseende og Karrets Forløb, dels af, hvor i Snitserien jeg traf Figurerne.

Naar Megakaryocytfigurerne saaledes var fundet, gjaldt det om saa nøjagtigt som muligt i Nabosnittene at bestemme de tilsvarende Felter. I disse haabede jeg saa at træffe Fortsættelser af Megakaryocyterne.

Paa denne Maade kom jeg ind paa Spørgsmaalet om, hvorvidt Opsøgningen af korresponderende Punkter i Snitrækkerne kunde gøres lettere og hurtigere. Det var som Regel temmelig omstændeligt at fastslaa Megakaryocytforlængelsernes Samhørighed i dette Væv, der udelukkende bestod af Blodlegemer og deres Stamceller.

Naturligt var det derfor, at jeg forsøgte Indførelse af Retningslinier i Præparaterne.

Indlejring i Paraffinen af Uld- eller Silketraade, Papirstrimler o. l. sammen med Knoglemarven, eller Tilskæring af Vævsstykkerne inden Indsmeltningen satte mig ikke i Stand til i Snittene at faa passende points de repère.

Det af *Born-Peters* angivne — af Zeiss fremstillede — Instrumentarium søgte jeg derpaa at bringe i Anvendelse (sml. Encyklop. (II) p. 454).

Med dette Apparat forsynes Paraffinblokken under Indsmeltningen med en rillet Flade. Efter at denne er besmurt med passende Stof (»Waterproof Blacking«), skæres Snittene vinkelret herpaa. I Vævssnittets umiddelbare Nærhed faas saaledes en takket, mørk Linie, der vil kunne tjene som Udgangspunkt for sammenlignende Undersøgelser i Snitserier.

Denne Fremgangsmaade viste sig imidlertid uanvendelig.

Jeg kunde hverken fremskaffe eller fremstille et Stof, der var velegnet til Besmøring af Paraffinfladen, og de mangelfulde Retningslinier, det efter megen Besvær lykkedes mig at faa indført, viste sig uanvendelige. Ved den Forstørrelse, jeg benyttede, fremtraadte Retningslinien nærmest som et bredt Baand. Det var endvidere paa Forhaand umuligt at sige, hvor de Wrightske Figurer laa, ligesom disse kun strakte sig over faa Snit. Jeg kunde derfor ikke ved Prøvemikroskopi, saaledes som det benyttes ved embryologiske Undersøgelser, opsøge en bestemt Region og tildanne Væv- og Paraffinblokken paa en saadan Maade, at det paagældende Celleparti kom til at ligge umiddelbart under Retningsplanet. Afstanden i Snitpræparaterne mellem Retningslinien og den Wrightske Figur, der ønskedes undersøgt, blev saaledes altid større end et Par Immersionssynsfelter, end sige en Del af eet.

Efter dette opgav jeg yderligere Forsøg paa kunstigt at indføre Retningslinier. Herved blev imidlertid Undersøgelserne meget omfattende. Selvfølgelig maatte jeg stadig tage de tidligere nævnte Hensyn til Megakaryocytfigurernes Velegnethed til Serieundersøgelse med i Betragtning. Tillige blev det nødvendigt at opsøge Punkter, helst i Cellefigurens umiddelbare Nærhed, der ogsaa i Nabosnittene vilde kunne tjene til nøjagtig Opsøgning af korresponderende Arealer. Jeg benyttede hertil f. Eks. to eller tre, tyndvæggede Arterier, der var ramt nøjagtig transverselt. Cellegrupper er ogsaa blevet anvendt, idet disses nogenlunde regelmæssige Kærner dannede Udgangspunkt for mine Maalinger. Undertiden laa den Wrightske Figur nær Præparatets Kant, eller den var beliggende i en tilfældig Vævsbro, der lod sig følge fra Snit til Snit.

Min Fremgangsmaade har været følgende:

I et Præparat findes en Wrightsk Figur, der skønnes velegnet til Undersøgelse.

Indenfor samme Synsfelt (Imm. Ok 4) opsøges passende points de repère.

Afstanden mellem Figuren og Udgangspunkterne udmaales og opnoteres.

I Nabosnittene opsøges ved middelstor Forstørrelse det tilsvarende Areal.

I Immersionssynsfelt udmaales fra de valgte Udgangspunkter de tidligere fundne Afstande.

Det saaledes bestemte Felt bliver meget nøje undersøgt, idet man heri muligvis kan paavise Dele af den tidligere iagttagne Wrightske Figurs Protoplasma.

Naar Figurernes Samhørighed saaledes var konstateret i Seriesnittene, tegnede jeg til yderligere Kontrol en Skitse, farvelagde den og udklippede Figurerne med Bibeholdelse af Udgangspunkterne. Ved at lægge Billederne i passende Orden over hinanden lod Forløbet af de Wrightske Figurers Forgreninger sig let studere.

Paa denne Maade har jeg undersøgt 30 Wrightske Figurer i Seriesnit.

De Formodninger, jeg havde kunnet danne mig ved at betragte Wrightske Figurer i tynde og tykke Enkeltsnit, lod sig fuldtud bekræfte ved den systematisk gennemførte Serieundersøgelse.

Det viste sig saaledes, at alle de Granulagrupper og Granulastrøg, der tilsyneladende var isolerede, fortsatte sig over i hinanden ved Hjælp af Forbindelsesbroer. Herved blev det muligt at følge dem som sammenhængende, runde eller fladtrykte Granulalegemer, der med stærkere eller svagere Bugtninger stilede henimod det Sted i Karvæggen, hvorudfor Megakaryocyterne var beliggende. Jeg saa endvidere tydeligt, hvorledes der fra Kæmpecellen udgik ensartet granulerede Protoplasmaforlængelser. Disse banede sig Vej ind imod Karrets Lumen og lod sig her følge et Stykke fra Snit til Snit.

Naar stærkt bugtede Celleforlængelser var blevet ramt mere eller mindre tangentialt, kunde de med deres granulerede og ugranulerede Protoplasma ligne Perlekæder. Det var imidlertid muligt i Seriesnit

at paavise, hvorledes et ugranuleret Strøg eller en fuldstændig Defekt i Forløbet af en saadan kædeagtig Dannelse lod sig supplere af granulerede eller ugranulerede »Broer« i Nabosnittene.

De Billeder, jeg i de enkelte Snit fik af Megakaryocytforlængelserne, var meget forskelligartede. Dette rettede sig efter, om den Wrightske Figur i det paagældende Tilfælde var ramt paa tværs, paa skraa eller paa langs, nærmere eller fjernere fra Kargennemgangsstedet.

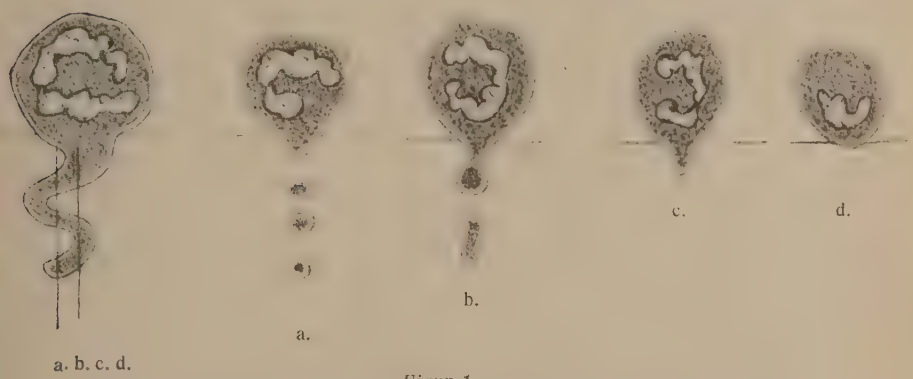
Paa Snit, der havde ramt Megakaryocytforlængelserne paa tværs, lige efter, at disse var traadt ind i Karret, saa man det ene runde, let kantede Granulalegeme ved Siden af det andet, alle omgivet af hyalint Protoplasma. Ved Skraasnit var Granulohobene ovale, komma- eller fingerformede. Havde man ramt den Wrightske Figur der, hvor Bundtet af de mere eller mindre bugtede Pseudopodie divergerede stærkt, fremkom alle Blandinger af Tvær-, Skraa- og Længdesnit.

Undertiden fandt jeg Granulagrupper, som tiltrods for at de laa i umiddelbar Nærhed af en uregelmæssig formet Celle, i Seriesnittene overhovedet ikke lod sig bringe i Forbindelse med denne. Tydning af saadanne Forhold beredte mig i Begyndelsen store Vanskeligheder; senere røbedes imidlertid Aarsagen. Flere Wrightske Figurer havde i saadanne Tilfælde været lejret tæt op ad hinanden, og som Følge deraf var der opstaaet Forvirring ved Identificeringen af samhørige Granulastrøg.

Ved Serieundersøgelser kunde jeg tillige paavise et meget vigtigt Forhold. Hvor der i Karrene laa tilsyneladende isolerede Blodpladehobe, lod disse sig altid føre tilbage til en Megakaryocyt beliggende i umiddelbar Nærhed over eller under. Man kunde saaledes altid enten i samme Snit følge Granulalegemerne henimod Megakaryocyten eller i Snitserierne ved Projektion bringe dem til at falde indenfor Kæmpecellens Omraade. Dette Forhold gjorde sig saa konstant gældende, at jeg, ved Fundet af tilsyneladende fuldstændig isolerede Granulahobe, med Sikkerhed kunde vente at finde en Wrights Figur paa det tilsvarende Sted i det næste eller foregaaende Snitpræparat (sml. Farvetavlerne 7 og 8).

»Isolerede« Granulahobe, beliggende lige udfor en Protoplasmaforlængelse, er et Fund, der af Wright o. a. er blevet opfattet som

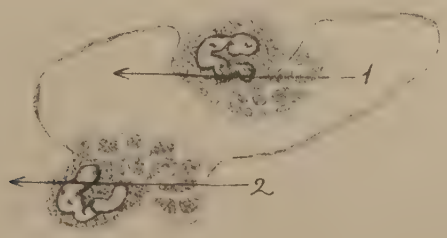
sikkert Tegn paa Protoplasmaafsnøring. Jeg har Gang paa Gang kunnet vise, at den yderste Spids af en Pseudopodie (Granulahoben) stod i Forbindelse med den øvrige Del af Celleforlængelsen. Den til-



Figur 1.
Seriesnit af en Megakaryocyt med Pseudopodie (skematiseret). Paa Cellen længst til venstre er Snitretningerne a, b, c og d angivet.

syneladende Isolation var opstaaet derved, at Pseudopodien yderst ude havde dannet et ret skarpt Knæk. I det ene Snit fandtes Pseudopodien medsamt den yderste Spids; i Nabosnittet Forbindelsesbroen ɔ: selve Knækket.

Naar de Wrightske Figurer i Knoglemarvssnittene undertiden har kunnet synes at ligge enten fuldstændig extra- eller intravaskulært,



Figur 2.
To Megakaryocyters forskelligartede Beliggenhed i Forhold til et Knoglemarvskar (skematiseret).

beror ogsaa dette paa Fejltydning. Hosstaaende Figur viser, hvorledes Kæmpecellernes vekslende Beliggenhed i Forhold til Karrene og særlige Snitretninger har kunnet give Anledning til saadanne forkerte Opfattelser.

Dersom Snittet har ramt den øverste Megakaryocytfigur i et Plan vinkelret paa Papiret (ved 1), fremkommer Billedet af en Kæmpecelle med centraltbeliggende Kærne, der omgives af en perinukleær, granuleret Zone og perifert besidder Protoplasmaforlængelser og »Granulagrupper«. Da Cellen ligger yderst i en Vævsspore, lader Karbegrænsningen sig ikke se. Paa denne Maade synes den Wrightske Figur at være fuldstændig intravaskulært lejret (sml. Farvetavle 6 a).

Lægges et Snit igennem den nederste Figur (ved 2), vil det modsatte Forhold gøre sig gældende, og Cellen er tilsyneladende helt extravaskulært lejret.

Resumé:

De Wrightske Figurer er blevet undersøgt i Seriesnit.

De Formodninger, jeg tidligere havde dannet mig om de de uregelmæssigt formede Megakaryocyters Bygning, har herved fuldtud ladet sig bekræfte. Det har vist sig, at de Billeder, der igennem Tiderne er blevet opfattet som Tegn paa Grupperingsfænomener i Megakaryocyternes Pseudopodier og Afsnøring af Protoplasmadele fra Celleforlængelserne, beror paa Fejltydninger. De nævnte cellulære Processer synes aldrig at kunne finde Sted. Megakaryocyter, dannende Wrightske Figurer, er aldrig lejret helt extra- eller helt intravaskulært.

Inden jeg gaar over til at give en samlet Fremstilling af de Wrightske Figurer, deres Bygning og Opstaaelsesmaade, skal jeg omtale to Forhold vedrørende de uregelmæssigt formede Megakaryocyter:

1) den særlige Form for Granulagruppering, kaldet »Felderung«, der undertiden lader sig se i Cellerne.
2) Hvorvidt Megakaryocyterne besidder Evne til at danne Blodplader, naar hele Cellen er gaaet over i Cirkulationen.

1. Ved »Felderung« (eller »Campeggiamento«) forstaar man intra-

cellulær Gruppering af Megakaryocyternes Granula. Disse Hobe kan være af højst forskellig Størrelse og Form, opfyldende Cellelegemet enten helt eller delvis.

Megakaryocyter af denne Art er ikke saa sjældent blevet iagttaget af en Del af Wright-Teoriens Tilhængere. Man har saaledes fundet »Felderungs«-Figurer dels i Snitpræparater af bloddannende Organer ved normale, pathologiske eller experimentelt fremkaldte Tilstande, dels i Udstrygningspræparater af Blod, især fra Patienter, lidende af myeloisk Leukæmi.

Wright har (1906) omtalt en særlig Anordning af Granula, der lod sig se, naar Vævsstykkerne var blevet fixeret med Metylalkohol. *Schridde* (1907) fandt i Snitpræparater (Menneskemateriale) en Gruppering af Megakaryocyternes Granula, der stærkt mindede om de Nisselske Legemer i Nerveceller. *Downey*, *Ogata*, *Foà*, *Cesaris Demel* o. a., der har beskæftiget sig med Wright-Teoriens histologiske Grundlag, gør lignende Fund. En Del af de Undersøgere, der i Blodudstrygningspræparater har undersøgt Megakaryocyternes Morfologi (*Di Guglielmo* m. fl.), fandt her meget ofte Gruppering af Megakaryocyternes Granula.

I alle Tilfælde har man ment at staa overfor et og samme Fænomen, idet Sammenhobningen af Granula er blevet opfattet som en Art Modningsproces, der gik forud for Blodpladernes Frigørelse. Naar Felderungsfigurerne lod sig se, blev det opfattet som Tegn paa, at der stilledes store Krav til det bloddannende System (sml. p. 61).

Ved Uddifferentiering af denne Megakaryocytform er der imidlertid blevet indført et nyt Begreb, der ikke fuldtud stemmer overens med den Maade, hvorpaa Wright tænkte sig, Blodpladedannelsen fandt Sted.

Hvorvidt Megakaryocyter, der besidder »Felderung«, tillige udsender Protoplasmaforlængelser eller ej, synes at være blevet opfattet som mindre væsentligt baade for Cellefunktionen og for Fremkomsten af Granulagrupperne. *Ogata* meddeler dog, at han fortrinsvis finder Gruppering af Granula i de Celler, der udsender Pseudopodier.

Paa hvilken Maade Megakaryocyterne skulde kunne afgive Blodplader, naar Pseudopodierne mangler, meddeles ikke. Uvilkaarligt brin-

ges man her til at tænke paa Forhold, kendt fra Sporers Modning i Sporehuse med paafølgende Frigørelse ved Sprængning af dette.

Efter min Mening er der i alle Tilfælde her et springende Punkt i den mere moderne Opfattelse af Mekanismen ved Blodpladedannelsen.

Ved nøjere at betragte »Felderung«figurerne og ved at sammenligne disses Udseende med de af tidligere Undersøgere givne Beskrivelser, er det blevet mig klart, at der findes forskellige Slags »Felderung«.

a. I Megakaryocyter (i Snitpræparater) finder jeg saaledes undertiden, enten perifert, centralt eller overalt i Cellen, tenformede, stavformede, lige, krummede, ofte uregelmæssige Granulastrøg, der hyppigt er hvirvelagtig anordnede. De enkelte Granula er af forskellig Størrelse og kan undertiden være stærkt sammenklumpede. Celler af dette Udseende synes at optræde i stort Tal, naar de endelig forekommer; de synes ikke at staa i nogen Relation til Karrene. Ved Serieundersøgelse er Cellelegemet næsten altid regelmæssigt formet, uden Pseudopodier.

Den beskrevne Cellestruktur antager jeg staar i Forbindelse dels med de til Vævsbehandlingen anvendte Væsker, dels med Materialets Tilstand, inden Fixation blev indledet.

Den optræder saaledes meget sjældent i legemsvarmt fixeret Materiale, naar f. Eks. Helly-Maximows Væske er benyttet; derimod ofte efter lang Fixation i Metylalkohol eller Dominicis Væske. (Fig. 3a p. 83). Sammenligner jeg hermed — som Kontrol — Snit- og Udstrygningspræparater (fra samme Individ), der kun er blevet fixeret i ganske kort Tid, er Megakaryocytgranula ensartet fordelt i Cellerne. Under mine tidligere omtalte Fixationsforsøg var »Felderung«sfigurerne ret hyppige. Jo daarligere en Væske maatte anses for at være egnet til Fixation af bloddannende Organer, desto oftere syntes Granuleringsfænomener af den beskrevne Art at optræde.

»Felderung« optræder hyppigere i Ligmateriale end i Væv, fixeret umiddelbart efter Dødens Indtræden, ligesom den som oftest ses, naar Vævet har været udsat for toxiske Paavirkninger (Blodgifte, saasom Saponin, eller Bakterieæmier).

Celler, udvisende den ovennævnte Art »Felderung«, anser jeg for identiske med de af *Wright* (i 1906) og *Schridde* (i 1907) beskrevne.

b. I Snitpræparater af Knoglemarv optræder ogsaa en anden Art »Felderung«.

I ret store og temmelig regelmæssigt formede Megakaryocyter findes paa et begrænset Parti, dels større eller mindre, dels runde eller ovale Granulahobe. Disse er imidlertid aldtig uregelmæssigt formede eller lejrede som de under a) beskrevne. Udfor det Sted, hvor Granulagrupperne ligger, er Cellekonturen undertiden let tunget. Opsøger man den samme Megakaryocyt i Nabosnittene, vil der, naar man gaar i den ene Retning, udfor det beskrevne Parti findes Pseudopodier, medens i den anden Retning Granulahobene reduceres stærkt i Antal, og gaar op i Cellens iøvrigt ensartet fordelte Granulamasse. Granulahobene røber sig som Dele af Cylindre, der fra Snit til Snit fortsætter sig over i hinanden og tager Retning ind imod Megakaryocyten. Følger man endvidere meget nøje Karbegrænsningens Forløb i Forhold til Megakaryocyten, viser det sig, at Cellen altid ligger extravaskulært lige opad Karrene og Granulagrupperne intravaskulært.

Det drejer sig altsaa om den samme Slags uregelmæssige Megakaryocyter, som jeg tidligere har beskrevet. Idet Megakaryocyten er ramt paa en særlig Maade, faar man foruden Cellelegemet kun Pseudopodierne med lige ved disses Afgangssted. »Granulahobene« er med andre Ord »Stubbene« af Protoplasmaforlængelserne, der er ramt mere eller mindre skraat. (Fig. 3b, p. 83).

Den omtalte Form for »Felderung« svarer til den bl. a. af *Ogata* (1912) og *Seeliger* (1922) beskrevne.

c. En tredie Form for »Felderung« vil kunne ses i Udstrygningspræparater af Megakaryocyter i Cirkulationen eller, hvad jeg hyppigere har haft Adgang til at skaffe mig, i Udstrygningspræparater af hæmatopoietiske Organer.

Kransformede eller solide Megakaryocytkærner er her omgivet af en større eller mindre Mængde Protoplasma, der som oftest er beliggende ved Kærnens ene Side.

Cellekonturen er meget uregelmæssig, tjavset, sine Steder næppe synlig. Foruden at hele Cellelegemet indeholder talrige, kantede, store og smaa Granulahobe vil lignende kunne findes fritliggende nærmere eller fjernere Cellen. (Fig. 3c, p. 83).

Denne Form for Granulagruppering i Udstrygningspræparater har jeg set optræde, naar Objektglassene var blevet gnedet stærkt mod hinanden (i Lighed med den Maade, hvorpaa især de italienske Hæmatologer foretager Udstrygningen af Blod og Organstykker). Benyttede jeg den varsomste Udstrygningsmaade, hvorved Vævsstykket forsigtigt føres hen over Glasset, saas Figurerne ikke.

Disse »Felderung«sfigurer svarer til de af *Di Guglielmo* o. a. beskrevne og afbildede.

Resumé:

Paa Grundlag af de ovenfor omtalte Fund, mener jeg at kunne skelne mellem tre Slags »Felderung«.

I Snitpræparater af hæmatopoietiske Organer ses 2 af Formerne, i Udstrygningspræparater af Blod og Knoglemarv findes den tredie Form.

Aarsagen til Granulagrupperingens Opstaaen er forskellig. Naar man har udskilt denne Slags Megakaryocyter som en særlig Celleform, beror det i alle tre Tilfælde paa Fejltydning.

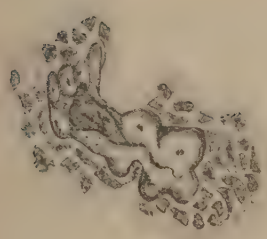
Den ene af de i Snitpræparater fundne Form for »Felderung« skyldes enten chemisk Indvirkning af Fixationsvæskerne, intravital, toxisk Beskadigelse eller staar i Forbindelse med begyndende postmortelt Cellehenfald.

Den anden Form beror paa en særlig Snitretning, hvori de tidligere beskrevne Wrightske Figurer er blevet ramt.

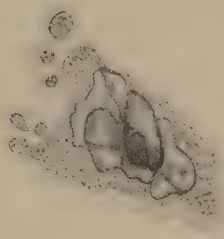
Den Form, man træffer i Udstrygningspræparater, fremkommer ved mekanisk Læsion af Megakaryocyterne under mindre skaansom Præparation. Cellerne brister helt eller delvis, og Granula gnides sammen i mindre Hobe.

Ifølge Sagens Natur forekommer den førstnævnte Form for Granulagruppering udelukkende intracellulært, de sidstnævnte »Granulagrupper« er lejrede udenfor Cellens normale, regelmæssige Begrænsning.

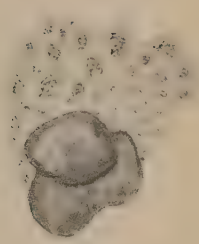
2. Jeg skal ganske kort komme ind paa Spørgsmaalet om, hvorvidt



a.



b.



c.

Figur 3.

Megakaryocyter, der er lejrede helt intravaskulært, besidder Evne til at danne Blodplader.

Siden *Aschoff* (1893) fandt Megakaryocytkærner i Lungekapillærerne, har adskillige senere beskrevet Megakaryocyters Optræden i Organerne, saavel ved normale som pathologiske Tilstande.

Saadanne Fund har, som det tidligere er set, haft Betydning for Wrights histologiske Bevisførelse. *Wright* selv synes derimod kun en enkelt Gang at have iagttaget granulerede Megakaryocyter, beliggende helt intravaskulært (i Miltkar), og *Ogata* finder altid kun granulerede Megakaryocyter extravaskulært (i Knoglemarven).

I 1914 paaviste *Naegeli,* som den første, Megakaryocyter i det cirkulerende Blod hos Patienter med myeloisk Leukæmi. *Oelhafen, Di Guglielmo, Cesaris Demel* o. a. har senere ved forskellige Lidelser gjort lignende Fund. Megakaryocyter forekommer derimod aldrig i normale Menneskers Blod. *(Di Guglielmo).*

Især fra italiensk Side har man ment at have set talrige Beviser for, at intravaskulært optrædende Megakaryocyter formaar at udfolde en undertiden meget stærk blodpladedannende Funktion. *Di Guglielmo, Kaznelson* (1917) o. a. har saaledes i Blodudstrygningspræparater kunnet paavise de samme Faser i Blodpladeafgiften, som man har kunnet se i Knoglemarvssnit, lige fra Megakaryocyter med »Felderung«, typiske forgrenede Figurer, til løsrevne Protoplasmamasser.

Saadanne Fund har foranlediget *Di Guglielmo* til at opstille Be-

grebet: »Piastrinæmi«. Herved forstaas et ved forskellige pathologiske Tilstande optrædende Symptom. Det karakteriseres (som nævnt p. 18) ved, at modne og umodne Celler af Megakaryocyt-Systemet i stort Tal gaar over i Kredsløbet. De granulerede Former bærer Præg af stærk foroget Funktionsudfoldelse, (Wright-Figurer, »Felderung«). Blodpladernes Antal er stort, og deres Form og Størrelse afviger fra det normale.

Paa Grundlag af mine Erfaringer med Hensyn til Megakaryocyters Beliggenhed i normal Knoglemarv fra Kaniner, mener jeg at kunne fastslaa følgende: De granulerede Celler ligger noget hyppigere end tidligere formodet i de sinøse Kar. Det har derimod aldrig været mig muligt hos normale Kaniner, hverken i Snitpræparater fra Organer eller ved forskellige Undersøgelser af det cirkulerende Blod (sml. Side 141), at paavise granulerede Megakaryocyter i Cirkulationen.

Store ugranulerede Megakaryocyter (sml. p. 108), ligger altid extravaskulært. De »nogne« Megakaryocytkærner ligger som Regel exstravaskulært, men lader sig dog undertiden se intravaskulært i Knoglemarven.

Ved mine Experimenter har jeg derimod meget ofte kunnet paavise baade store, granulerede og smaa, mørkkærnede, ugranulerede (»nogne«) Megakaryocyter i Organernes Kar, især for Lungekarrenes Vedkommende. (Fig. 4, p. 86).

Det er forstaaeligt, at den vekslende Beliggenhed, som navnlig de granulerede Megakaryocyter kan udvise, afspejler sig saavel i Cellelegemet som Kærnernes ydre Form. I Knoglemarven vil Megakaryocyternes Udseende rette sig efter, om Celler ligger ude i Væv et, delvis inde i de tyndvæggede, sinøse Hulrum eller helt intravaskulært.

Ude i Vævet er Megakaryocyterne runde, ovale, pæreformede eller polygonale. Man faar Indtrykket af, at Cellen er i Hvile.

Naar Megakaryocyterne findes intravaskulært lejrede, er de som Regel aflange; Bredden bestemmes af Karrets Vidde, idet Cellen som oftest udfylder Karlumen helt. Formen er regelmæssig, langstrakt baade hvad Kærne og Protoplasma angaar. Protoplasmaet er fortrinsvis beliggende axialt, ved Cellepolerne.

Megakaryocyterne viser undertiden et ejendommeligt Udseende, mindende i større eller mindre Grad om Haandvægte, idet to større,

rundagtige Partier af Cellen er forbundet med en smal Bro. Alle Cellens Bestanddele synes at deltage i denne Formændring. Kærnen ligger saaledes enten i den ene eller anden Protoplasmadel, ragende mere eller mindre ud i den smalle Forbindelsesbro, eller ogsaa er baade Protoplasma og Kærne Genstand for stærk Indsnøring paa Midten. Disse Celleformer er Udtryk for hele Megakaryocytens Kargennemgang. Processen indledes med, at en Megakaryocyt, der ligger opad et Kar, sender en lille, ret bred Protoplasmaprominens ind i Karret. Efterhaanden vandrer mere og mere Protoplasma over. Kærnen, der stadig beholder sin centrale Beliggenhed i Cellen, undergaar, naar dens Tid kommer, lignende Forandringer.

Om Cellen gaar ind eller ud af Karret kan ikke med Bestemthed afgøres af de histologiske Billeder. Meget tyder imidlertid paa, at det førstnævnte er Tilfældet. (Sml. bl. a. Mikroskopi af Saponin-Forsøget p. 185).

Der maa saaledes skelnes mellem 2 Former for Kargennemgang:
1) den partielle, hvor kun en Del af Protoplasmaet rager ind i Karret, og hvori Kærnen aldrig deltager (= Wrights Figur),
2) den totale Cellegennemvandring.

Ved egne Undersøgelser er det kun meget sparsomme Oplysninger, jeg har kunnet faa om Megakaryocyternes Evne til at danne Blodplader, efter at Cellen helt er gaaet over i Cirkulationen.

Forholdene vilde bedst have ladet sig studere, dersom jeg havde haft Lejlighed til at sammenligne Blodudstrygnings præparater taget in vivo med Snitpræparater (bl. a. af dobbelt underbundne Kar) fra Patienter med myeloisk Leukæmi. Tilfælde med udtalt »Megakaryocytose«, har destværre ikke ladet sig opdrive.

Jeg har som Følge heraf maattet indskrænke mig til, samtidig med mine øvrige histologiske Undersøgelser, at have Opmærksomheden henledt paa, om der i Snitpræparaternes Kar fandtes stærkt uregelmæssige Megakaryocyter. Jeg har tillige nævnt, hvorledes den Form for »Felderung«, som man har iagttaget i Blodudstrygnings præparater, fejlagtig er blevet regnet som Udtryk for intravaskulær Blodpladedannelse.

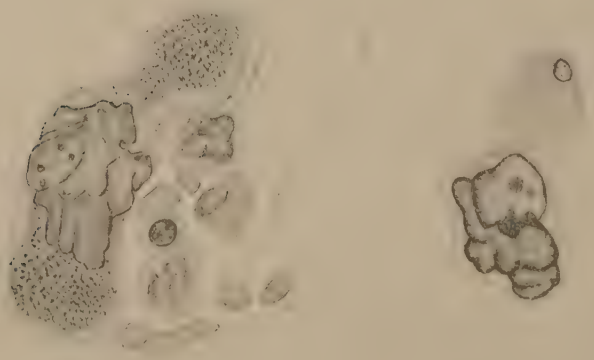
I det foregaaende er blevet omtalt, hvorledes jeg i Seriesnit har kunnet vise, at de Wrightske Figurer aldrig forekommer intravasku-

lært i Knoglemarven. En saadan Beliggenhed vilde være ganske i Strid med disse Figurers Opstaaelsesmaade.

Forsøg paa at paavise Megakaryocyter, end sige Wrightske Figurer i det cirkulerende Blod hos normale Kaniner eller ved Experimenterne, har derfor ganske naturligt kun givet negativt Resultat.

Ved mine senere refererede Forsøg har jeg ofte paavist Megakaryocyter i f. Eks. Lungekapillærerne. Ved Seriesnit har der imidlertid aldrig ladet sig se det mindste Tegn til Dannelse af Wrightske Figurer.

Jeg anser det for givet, at de af andre Undersøgere fundne Wrightske Figurer i Blodudstrygningspræparater er Kunstprodukter, der er opstaaet ved mekanisk Læsion af Cellerne i Lighed med den tidligere under c beskrevne Form for »Felderung«. Muligvis har ogsaa kunstigt isolerede Megakaryocytkærner, der har været lejret i Nærheden af Blodpladehobe, kunnet frembyde Lighed med de Wrightske Figurer, saaledes som man kender dem i Snitpræparater.



Figur 4.
Stor, granuleret og lille, ugranuleret Megakaryocyt, beliggende i Lungekar (stammende fra Aareladningsforsøg Nr. 6, p. 196).

Efter min Mening maa det anses som utænkeligt, at Megakaryocyter, der ligger helt inde i Karrene, kan danne Wrightske Figurer.

Paa Grundlag af mine Undersøgelser i Enkelt- og Seriesnit, skal jeg i det følgende give en mere samlet Beskrivelse af de ejendommelige Megakaryocytfigurer, der af Wright-Teoriens Tilhængere sættes i Forbindelse med Blodpladernes Genese.

De Wrightske Figurer bestaar altid af et extravaskulært lejret Cellelegeme med Kærne og mere eller mindre rigeligt, azurofilt granuleret Protoplasma samt en intravaskulær Del udelukkende bestaaende af fingerformede Celleforlængelser.

Cellelegemet er som oftest forholdsvis stort, ret regelmæssigt, halvcirkulært eller elliptisk formet. Indtil ¼ af Megakaryocyten er i direkte Berøring med det cylinderformede Kar, hvorved dette bliver omsluttet i $^1/_5$—$^1/_3$ af sin Cirkumferens, alt efter dets Kaliber og Cellestørrelsen.

Fra det plane eller let exkaverede Parti af Cellen, der berører Karrets Væg, sendes fingerformede Protoplasmaforlængelser ind i Lumen. Disses Antal er, i hvert Fald for de større Figurers Vedkommende 10—15, medens de »enkle« Wrightske Figurer kun har 1, sjældent 2—3 Pseudopodier. Celleforlængelserne er ofte anordnede i flere, korte, parallelle Rækker, der forløber i Karrets Længderetning. Denne Anordningsmaade er ikke ulig Haarenes Stilling i en Børste. (Sml. Farvetavle 6 a).

Det vides ikke hvori Aarsagen ligger, til at nogle Megakaryocyter sender mange, andre faa Pseudopodier af højst vekslende Størrelse ind i Karret. Efter al Sandsynlighed maa det sættes i Forbindelse med Karbegrænsningen (f. Eks. Stomatas Størrelse) eller med varierende Funktionsudfoldelse hos Cellen.

Protoplasmaforlængelserne kan være af forskellig Tykkelse, Længde, Form og Forløb.

De afgaar fra hele den Del af Megakaryocyten, der er i Forbindelse med Karvæggen.

Pseudopodiernes Tykkelse er fra 2—½ $^1/_3$ Erythrocytdiameter. Der findes tillige nogle enkelte, hvis Diameter maa antages at svare til $^2/_3$—½ Blodpladediameter. Pseudopodierne er tilsyneladende ens

tykke i hele deres Længde og ender distalt let tilspidsede eller afrundede. Den vekslende Bredde skyldes antagelig Stomatas forskellige Vidde eller Evne til at lade sig udvide. Pseudopodierne af Mellemtykkelsen svarer til Blodpladernes Diameter.

Længden har vist sig at være noget forskellig, fra korte til temmelig lange (1/4—1/2 Immersions—Ok. 4. — Synsfelt), næsten alle med et let bugtet Forløb. De korteste stiler mere eller mindre transverselt ind mod Midten af Karrets Lumen, de længste bøjer op og ned i Karret og ligger mest yderligt af alle Celleforlængelserne.

Deres Former er traadagtige — polseformede, cirkulære, flade, kannellerede eller facetterede (prismatiske).

Axialt i Pseudopodierne ligger Granula anordnet i et tykkere eller tyndere Parti. Tværsnittenes Udseende svarer til Protoplasmaforlængelsens Dimensioner. Granulas Fordeling og Udseende er i Pseudopodierne altid den samme som i selve Cellen, ligesom Pseudopodierne aldrig viser Tegn til at falde hen i granulerede Smaalegemer. De granulerede Partier er udadtil omgivet af en ensartet, bred, ugranuleret Protoplasmabræmme, der sjældent viser Variationer i Tykkelsen.

Samtlige Celleforlængelser bærer Præg af at være fremkommet i det Øjeblik, Protoplasmaet ligesom presses igennem Karvæggens naturlige eller kunstigt fremkaldte Aabninger (ligesom Kagemasse trykkes gennem en Kagesprøjtes Bundplade).

Megakaryocyter udsender ingen Celleforlængelser i det extravaskulære Væv. De afgiver derfor lige saa lidt Pseudopodier til alle Sider, som disse afgaar et kortere eller længere Stykke fra Karret for derpaa at bane sig Vej igennem Væggen ind i Blodstrømmen.

Megakaryocytkærnen er enten regelmæssig, rund—oval, mørk solid, undertiden med bikageagtig Tegning, eller kransformet, lys. Det bør fremhæves, at Kærnen i de Wrightske Figurer i Knoglemarven aldrig viser Tegn paa Gennemgang, endskønt den som Regel er lejret meget tæt opad Karvæggen. Den Del af Cellelegemet, der oprindelig har skilt Kærnen fra Karret, synes at være medgaaet til Pseudopodiedannelse. Kærnen har imidlertid samtidig hermed undladt at søge en central Beliggenhed i den resterende Del af det extravaskulært lejrede Cellelegeme.

De Wrightske Figurer optræder under lidt forskellige Former, de »enkle« og de »sammensatte«, alt eftersom Cellerne kun udsender een Forlængelse, eller et vifteformet Bundt. Til begge Grupper, der bedst lader sig se i Seriesnit, hører Celler af vekslende Størrelse, baade hvad Protoplasmamængden og Kærnen angaar.

I Knoglemarven forekommer begge Former. I Milten har jeg derimod kun sjældent truffet Wrightske Figurer og da kun den »enkle« Form med en lys, kransformet Kærne.

Der bør, som tidligere nævnt, nøje skelnes mellem Megakaryocyternes partielle og totale Kargennemgang.

Resumé:

Der er i det foregaaende blevet gjort Rede for de af mig foretagne Undersøgelser over de ejendommeligt formede Megakaryocyter, der gaar under Betegnelsen Wrightske Figurer.

I Enkeltsnit har jeg fundet Billeder, der fuldstændig ligner de af Wright og andre beskrevne. Ved yderligere at lade mine Undersøgelser omfatte Seriesnit af Knoglemarv, har jeg kunnet danne mig en Forestilling om disse Cellers rumlige Forhold.

Fremkomsten af de forskellige Megakaryocytfigurer er betinget af de Maader, hvorpaa Snittene har ramt de uregelmæssigt formede Megakaryocyter.

De Wrightske Figurer bestaar alle af en extravaskulært lejret, regelmæssigt formet Celledel (Kærne og Hovedmængden af det granulerede Protoplasma), samt intravaskulært optrædende Protoplasmaforlængelser, Pseudopodier. Disse sidste er af vekslende Længde, Tykkelse og Forløb. Pseudopodierne indeholder Granula, jævnt fordelt indenfor en »hyalin« Randzone. Alle Celleforlængelserne staar i direkte Forbindelse med Megakaryocyterne; der er aldrig Tale om, at de løsnes fra Cellerne. Granulagruppering og Afsnøring af azurofilt granulerede, blodpladelignende Legemer finder aldrig Sted. Ved Serieundersøgelser har tilsyneladende isolerede Granulalegemer og Pseudopodiedele vist sig at være Dele af de samme Megakaryocytforlængelser.

Der findes »enkle« og »sammensatte« Wrightske Figurer.

Ved de ovenmævnte histologiske Undersøgelser har jeg paavist,

hvorledes Megakaryocyterne fuldstændig mangler Evnen til at afgive blodpladelignende Legemer. Det maa tillige anses for givet, at de »Afsnøringsprodukter«, der er beliggende i Kæmpecellernes umiddelbare Nærhed, er identiske med Kæmpecellernes Protoplasma.

OM BLODPLADERNES FARVNING I SNITPRÆPARATER.

Omend de i forrige Afsnit omtalte Iagttagelser kunde synes tilstrækkeligt at tale imod Rigtigheden af Wright-Teoriens histologiske Grundlag, vil en nøjere Analyse af Forholdet mellem Megakaryocyter og Blodplader dog endnu ikke kunne anses for endelig afsluttet.

Mine tidligere anstillede Undersøgelser over Megakaryocytfigurerne havde bragt mig til at tvivle om, at Blodplader overhovedet i Snitpræparater lignede Megakaryocytprotoplasmaet. Jeg var dog endnu ikke helt berettiget til at gøre nogen anden Paastand gældende, da der i Snitpræparater af Kar stadig lod sig finde isolerede, azurofile Granulahobe.

Mange tidligere Undersøgere har fundet fuld Identitet mellem Blodpladernes og Megakaryocyternes Granula (*Ferrata* og *Negreiros-Rinaldi*, *Klaschen*, *Firket*, *Seeliger*, *Minot*, *Reitano*, *Di Guglielmo* o. fl.) Blandt visse af Teoriens Tilhængere har der imidlertid netop paa dette Punkt gjort sig divergerende Opfattelser gældende. Aarsagerne hertil maa enten have været de forskellige Fremgangsmaader, der er blevet benyttet til nøjere Analyse af Cellegranula, eller ogsaa at der i Virkeligheden findes en Forskel, som kun ganske faa har kunnet paavise.

Naegeli (1914) beskriver saaledes, at begge Granulaformer i Udstrygningspræparater stemmer overens tinktorielt, men er forskellige i Størrelse, idet Megakaryocyternes er langt mindre end Blodpladernes. Da der optræder Mellemformer, anser han det alligevel for givet, at Megakaryocyterne danner Blodpladerne. Den fundne Forskel tilskriver Naegeli Modning af Blodpladegranula eller Ændringer i Farveabsorptionen. *Oelhafen* (1914) paaviser Forskel baade i Størrelse, Farvelighed og Fordeling af Granula hos de to Elementer, samt anfører, at Bedømmelsen af Granulaidentiteten er vanskeliggjort i Snitpræparater. *Sabin* (1922) farvede i

Vitalpræparater 2 Typer Granula i Blodpladerne, derimod kun een i Megakaryocyterne. *Kaznelson* (1917) finder undertiden særlig store Granula i Megakaryocyterne.

Naar Wright efter Farvning med samme azurholdige Væske i Blodudstrygningspræparater, i Snitpræparater af dobbelt underbundne Kar og i Knoglemarvssnit finder to Formelementer af ens Udseende, har han hermed anset Identiteten mellem de granulerede Smaalegemer og Megakaryocyterne for givet. Han har hermed regnet Beviskæden for Teoriens Rigtighed for at være sluttet.

Et af de centrale Punkter i Blodpladeteoriens histologiske Grundlag bliver saaledes, at Wright, ligesom mange senere Undersøgere, paa Forhaand er gaaet ud fra, at Blodpladernes Udseende er ens i Snit- og i Udstrygningspræparater. De mener, at det drejer sig om Blodplader, naar man i Snitpræparater finder azurofilt granulerede Smaalegemer af de samme Dimensioner, som Blodplader har i Udstrygningspræparater.

Dette Ræsonnement forekommer mig ukorrekt. Ligesom de topografiske Forhold maa bevares, for at give én et paalideligt Skøn over Wright-Figurernes Udseende og Opstaaen, er det af Vigtighed at foretage sammenlignende Granulaundersøgelser paa fuldstændig ensartet Grundlag.

Som det ses, er der fra første Færd blevet gjort et Brud herpaa. Ved at undersøge dobbelt underbundne Kar og Thromber gør Wright ganske vist et Tilløb til at bedømme Blodpladerne under samme Forhold som Megakaryocytfigurerne. Han har imidlertid kun til en vis Grad gjort sig klart, hvilke Fejlkilder der findes ved en saadan Fremgangsmaade, ligesom han ikke gør Forsøg paa helt at eliminere disse. Tillige har Wright undladt at gøre sig klart, at Farvemetoden ikke er elektiv.

Wright har saaledes paa dette Punkt foretaget et Spring i Bevisførelsen. Spørgsmaalet om, hvorledes isolerede, umiskendelige Blodplader fremtræder, naar de er blevet behandlet som Vævsstykker, er endnu ikke blevet fyldestgørende besvaret.

Som Følge af de ovennævnte Forhold, forekom det mig nødvendigt at underkaste Blodpladernes Udseende i Snitpræparater en nøjere Analyse.

Blodpladerne er blevet beskrevet noget forskelligt. Den Opfattelse, der nu gør sig gældende blandt de fleste, er, at Blodplader bestaar af to Substanser, et basofilt, ensartet Protoplasma og azurofile Granula.

I Snitpræparater har denne Struktur ladet sig paavise af mange af Wright-Teoriens Tilhængere (*Bunting, Brown, Downey, Le Sourd* og *Pagniez, Cesa Bianchi, Seeliger* m. fl.).

I Thromber har bl. a. *Degkwitz* (1910) set Blodplader, der besad et centralt Parti, som var stærkere farvet end Periferien.

Blodpladerne er imidlertid ogsaa blevet beskrevet paa andre Maader, formodentlig som Følge af den vekslende Teknik, man har benyttet til Fixation og Farvning. Nogle hævder saaledes, at Blodpladerne enten er ægte Celler med Kærne eller en in toto forandret Kærne eller et Formelement uden ensartet Struktur.

Man bør lægge Mærke til, at visse Undersøgere, til Trods for, at der til Farvning af Blodplader i Snitpræparater er blevet benyttet azurholdige Væsker, har fundet Blodplader, som i Udseende afviger fra det almindelig kendte.

Seeliger finder især i Knoglemarvssnittenes Randpartier homogene Blodplader. Naar Blodpladerne fremtræder paa denne Maade, mener han, det skyldes langsom Fixation som Følge af Vævets Fedtholdighed. Denne Forklaring anser jeg dog for urigtig. De yderste Partier af Vævene bliver netop hurtigst fixeret, og Fedtholdigheden virker i Almindelighed ikke generende for Farvningens heldige Udfald.

Schilling synes at indtage et Særstandpunkt. Ved Benyttelse af de sædvanlige Præparationsmaader kan han hverken i Snitpræparater af Milt, Knoglemarv eller Mesenterie finde den mindste Rest af Blodplader. Først i Præparater fra Knoglemarv og Lunger, behandlet efter den af ham angivne Metode, lader der sig se mange smaa, kærnelignende Blodplader. Disse er før Farvningen lysbrydende, skarptkonturerede, efter Farvningen mørkerode, protoplasmafrie, kærnelignende Smaalegemer.

Enkelte Undersøgere af Thrombedannelsen har ogsaa beskrevet homogene Blodplader. *Hauser* (1913) formaaede saaledes ikke i Snit

præparater af Kar at fremstille Granula i Blodpladerne, trods den mest intensive (Hæmatoxylin-)Farvning.

Det havde oprindelig været min Hensigt ved Benyttelse af Romanowskys-Farvevæsker at underkaste Forholdet mellem de omhandlede to Formelementers Granula en nøjere Undersøgelse saavel i Udstrygnings- som i Snitpræparater. Jeg vilde herved dels skabe ensartet Grundlag for Bedømmelsen, dels sammenligne de to Arbejdsmetoders Ydeevne.

De Oplysninger, jeg imidlertid ved den forstnævnte Præparationsmaade syntes at kunne faa om Forholdet mellem Megakaryocyternes og Blodpladernes Granula, var usikre. Jeg fik dog ved nogle foreløbige Undersøgelser nærmest det Indtryk, at Granula i Megakaryocyterne var lidt mindre end i Blodpladerne. Farvetonen skønnedes derimod at være ens, hvilket stemmer med, hvad *Naegeli* har meddelt. Nogen endelig Afgørelse paa dette Grundlag turde jeg imidlertid ikke træffe.

Da Wright oprindelig har baseret sin Teori paa Snitpræparatundersøgelser, og da jeg anser denne Maade for den mest korrekte, gik jeg over til udelukkende at foretage sammenlignende Undersøgelser af Megakaryocyternes og Blodpladernes Granula i Snitpræparater.

Megakaryocyterne vil andetsteds blive nøjere omtalt. Jeg skal i dette Afsnit udelukkende beskæftige mig med Blodpladernes Udseende i Vævssnit.

De Oplysninger, man i de teknisk-histologiske Haandbøger faar om Blodpladernes Fixation og Farvning i Snitpræparater, er sparsomme.

Mange omtaler overhovedet ikke Blodpladefarvningen, og alt i alt findes kun meddelt meget faa Fremgangsmaader. Dette staar utvivlsomt i Forbindelse med, at Blodpladefixation i Snitpræparater er særlig vanskelig som Følge af Formelementets Skrøbelighed. *Oelhafen* anser tidligere Meddelelser om Blodpladefarvning for usikre som Følge af Vanskelighed ved Identificeringen af dette Formelement i Snitpræparater. *Cesaris Demel* finder, at Farvning saavel af Megakaryocyter som Blodplader i Snitpræparater er forbundet med Vanskeligheder.

Foruden de tre af Wright anbefalede Fixationsmidler, (Metyl-

alkohol, Formalin og Sublimat), nævnes Müllers Væske blandet med Formalin eller Sublimat (*Schmorl* 1923 og *Ehrlichs Encyklopädi* Udg. 1910), Dominicis Væsker, Bichrom-Sublimatopløsninger med eller uden Eddikesyretilsætning (*Jolly* 1924) og Formalin (*Schmorl* 1923). De ovenomtalte Væsker svarer i det store og hele til, hvad Wright-Teoriens Undersøgere har benyttet sig af. Det skal dog tillige anføres, at *Firket* (1922) og *Seeliger* (1923) anbefaler Sublimatalkohol og *Downey* (1913) en Formalin-Sublimat-Opløsning. Næsten alle har til selve Farvningen benyttet azurholdige Væsker, af hvilke de fleste giver Giemsas Farveopløsning Fortrinnet (i forskellige Fortyndinger og Indvirkningstider). Til Afvanding benyttes gerne Aceton.

Bortset fra de Undersøgere, der har beskæftiget sig med Wright-Teoriens histologiske Grundlag, har iøvrigt kun ganske enkelte Hæmatologer, uanset om de hylder den ene eller den anden Blodpladeteori, undersøgt Blodplader i Vævsstykker.

Le Sourd og *Pagnicz* har saaledes i 1911 angivet en Metode (Dominici-Fixation, Giemsa-Farvning), der ikke er ulig Giemsas Snitfarvemetode.

Schilling (1912) benytter til Væv fra Milt og Knoglemarv hurtig Fixation i 37° varm Sublimat-Alkohol, koncentreret Kogsaltsublimatopløsning eller Dominicis Væsker.

Den største Interesse har dog Blodpladernes Fixation og Farvning haft ved Studiet af Thrombedannelsen. Til Snitpræparater af Kar og Thromber er der som Regel blevet benyttet Metoder, der ikke direkte tager Sigte paa Farvning af azurofile Granula, ligesom Materialet ofte maa siges at have været uegnet.

Jeg har overfor Knoglemarv og Organerne gennemprøvet samtlige ovenanførte Metoder.

Resultatet svarede til Forventningerne. Hverken Giemsas, Leishmans eller Wrights Væsker formaaede at farve Blodplader paa den Maade, som Wright o. a. har beskrevet, og som det kendes fra Blodudstrygningspræparater. Jeg fandt saaledes i Karrene kun blaagraa uregelmæssige Brokker og kornede Masser.

End ikke Ellermanns Metode til Granulafarvning af Snitpræparater formaaede at bringe mig udover Vanskelighederne. Dette er ri-

meligt, da denne Fremgangsmaade, som tidligere anført, ikke giver specifik Farvning af azurofile Substanser.

Med den af mig angivne Metode til elektiv Farvning af Megakaryocytgranula mente jeg derfor at have størst Mulighed for at gøre Blodpladerne synlige.

Fremgangsmaaden giver dels god Konservering af Vævselementerne, dels bringer den alle de større og mindre Knoglemarvscellers Granulering til at træde specifikt frem. Herved vilde muligvis Blodpladerne kunne blive synlige, om ikke paa anden Maade, saa indirekte.

Ved til Stadighed nøje at undersøge Snitpræparater af Knoglemarv og Organer, med Henblik baade paa Megakaryocyternes og paa det ovenomtalte, meget labile Formelements Udseende, blev jeg opmærksom paa nogle ejendommelige Smaalegemer.

Deres Forekomst var noget inkonstant, undertiden manglede de totalt, undertiden fandtes de baade i Vener og Arterier i ret stort Antal. I Arterierne kunde de optræde i ringe Tal, selv om de næsten helt manglede andetsteds. De lod sig aldrig paavise extravaskulært.

Deres Fordeling var temmelig jævn; de kunde dog undertiden være samlet i større eller mindre Hobe. Deres Størrelse og Form viste faa Variationer, idet den længste Diameter svarede til $\frac{1}{2}$—$^{2}/_{3}$ af Erythrocyternes. De var ovale eller runde, skarpt konturerede og ensartet farvede; Farven rettede sig efter Farvningstiden. Naar saaledes alle andre Vævselementer fremtraadte tilfredsstillende farvet, var disse Legemer graa eller lysebrune; ved Overfarvning blev de rødlige eller rødlilla. Det er aldrig lykkedes mig at finde Granula i Smaalegemerne, hverken jævnt fordelt eller i en central Hob.

At dette var Blodplader, formodede jeg. Deres Udseende var imidlertid et andet, end hvad man maatte vente, dels efter Wrights Fund, dels udfra ens Kendskab til disse Elementer i Blodudstrygningspræparater.

De beskrevne Legemers Størrelse, Form og Antal syntes fremdeles at svare til, hvad jeg havde truffet ved Blodpladetælling i Thoma-Zeiss' Kammer.

For at søge disse Elementer nøjere identificeret anstillede jeg forskellige Undersøgelser.

Efter en Tid at have benyttet Snitpræparater af Blod, der gennem paraffineret Kanyle var blevet udtømt i Fixationsvæsken (og videre-behandlet som Vævstykker) og Thromber (fra Ligmateriale eller experimentelt fremkaldte), gik jeg over til udelukkende at anvende dobbelt underbundne Kar til de histologiske Undersøgelser over Blodpladerne.

Materiale af denne Art rummede visse Fordele.

Man maatte saaledes vente, at Blodpladerne forekom jævnt fordelt og i rigeligt Antal. Det fragile Formelement var tillige blevet hindret i at falde hen, indtil Fixationen kunde paabegyndes. Fixationsmaaden vilde være overensstemmende med den, Blodplader almindeligvis er Genstand for i Væv fra Knoglemarv. Fixationsvæsken vil saaledes i de dobbelt underbundne Kar først kunne gøre sig gældende overfor Blodpladerne efter Diffusion gennem en tykkere eller tyndere Karvæg.

I de dobbelt underbundne Kar fandt jeg, foruden Erythrocyter og Leukocyter, ret konstant de foromtalte »hyaline« Legemer. Deres Størrelse, Form og Antal bestyrkede mig i min Formodning om, at det denne Gang, ligesom tidligere, drejede sig om Blodplader.

Tillige lod der sig i Karrene se dels grynede Masser, ofte samlede i smaa, uregelmæssige Hobe, dels traadede Masser (Fibrin) i vekslende Mængde. De sidste syntes kun at forekomme, naar de »hyaline« Legemer var faatallige eller manglede (Farvetavle 3 i).

Denne Art Præparater viste sig ved at blive farvet i Række med Snit fra cellerigt Materiale at lægge Beslag paa temmelig lang Tid. Først herved blev Karindholdet synligt i alle Enkeltheder. Dette har bevirket, at jeg i Begyndelsen er kommet til at sammenligne normalt farvede Knoglemarvssnit med overfarvede Snit fra dobbelt underbundne Kar. For at undgaa mulige Forskelle i Farveprocedurerne, har jeg derfor altid senere paa samme Objektglas klæbet et Snit af hver af de to Vævsarter. Man vil herigennem, baade ved normal Farvning og ved Overfarvning i forskelligt Omfang, paa saa ensartet et Grundlag som muligt, kunne sammenligne Megakaryocyternes Protoplasma med de i dobbelt underbundne Kar forekommende Elementer.

Naar Megakaryocytgranula ved den ovenfor beskrevne Maade og ved Benyttelse af den mig angivne Granulafarvemetode, viste

elektiv Farvning af passende Styrke, traadte de fint kornede, uregelmæssige Partier i Karlumina stærkt tilbage. De var som oftest kun lige synlige og dannede et svagt graaligt Slør eller violet Maskeværk. Ved Overfarvning af Megakaryocytgranula blev samtidig de grynede Masser stærkt dominerende. De traadte da frem paa en mat, svagt rødbrun Bund (Serum?) som violette, blaagraa eller rødlige Granula, der som Regel var paa Størrelse med Megakaryocyternes. Anordningen af Granula i Hobe kunde ofte ligne Blodplader, som de kendes i Udstrygningspræparater. At de nævnte Substanser kunde være histologiske Enheder, syntes forskelligt at tale imod. Formen, Størrelsen og Fordelingen af de grynede Masser var højst varierende. Saafremt det havde drejet sig om Blodplader, vilde disses Tal i Karrene ligge meget langt over de Værdier, jeg havde bestemt ved Tælling, før Dyret blev dræbt.

Paa den anden Side har det aldrig været mig muligt at paavise centralt beliggende, azurofile Granula i de »hyaline« Legemer, selv om Farvningstiden blev varieret stærkt.

Naar de »hyaline« Smaalegemer var meget sparsomt tilstede, eller helt manglede, syntes Granulamasserne at være særlig rigelig tilstede. De var da ofte lejret i Maskerne eller Knudepunkterne af de traadede Masser. Skraa- eller Tværsnit af de sidstnævnte kunde undertiden ligne »hyaline« Legemer. At det imidlertid altid drejede sig om cylindriske, traadagtige Dannelser, røbedes dels ved vekslende Indstilling, dels ved Traadenes varierende Tykkelse.

Wright har, ligesom andre Undersøgere, gjort opmærksom paa, at der i Snitpræparater af Kar findes grynede Masser, som ved de almindelige Farvemetoder vil kunne give Anledning til Forveksling med Blodplader. Herved vil der tillige skabes Usikkerhed med Hensyn til Bedømmelsen af, om Blodpladernes Tal er øget eller nedsat. Ved Anvendelse af sin Granulafarvemetode, mener han imidlertid at kunne forebygge Forveksling, idet Blodpladerne i Modsætning til Plasmapræcipitaterne »farves paa karakteristisk Maade og optræder i det sædvanlige Antal.«

De af mig i saa rigeligt Antal fundne Granulahobe, mener jeg er dels Plasmaudfældninger, dels Blodpladefragmenter.

Det Element, som Wright i Snitpræparater af dobbelt under-

bundne Kar har regnet for umiskendelige Blodplader med azurofil Granulering, maa enten have været »ægte« Blodplader eller Hobe af grynede Masser. Mod den første Formodning taler bl. a., at jeg, som nævnt, aldrig i de »hyaline« Legemer har kunnet farve Granula. Ved en særlig Lejring af de grynede Partier eller ved disses vekslende Affinitet til Farvevæsken maa nogle Granulahobe have været mere fremtrædende end det øvrige, granulerede Karindhold.

Der synes ikke at være Overensstemmelse mellem Bygningen af Megakaryocyternes Protoplasma og de i Karrene optrædende, ensartede, »hyaline« Legemer; ligeledes var der ingen Identitet mellem disse Legemer og Blodplader, saaledes som de kendes fra Udstrygningspræparater. En endelig Afgørelse vil først lade sig træffe, naar det er blevet undersøgt, hvorledes umiskendelige Blodplader ser ud i Snitpræparater.

Undersøgelser af denne Art gjorde det nødvendigt at stille særlige Krav til Materialets Art og Fremskaffelse. Andre corpuskulære Blodbestanddele samt Plasmaet maatte hindres i at give sig tilkende, samtidig med at Blodpladehenfaldet, inden Fixationen blev paabegyndt, maatte forebygges.

Materiale af ovennævnte Beskaffenhed lod sig efter min Mening bedst fremskaffe ved følgende Fremgangsmaade:

Kaniner blev aareladt med paraffineret Kanyle. En stor Mængde Blod blev udtømt og stabiliseret (i 5cm³ Glas med 10 % Natriumcitrat (i Forholdet 9 + 1). Efter faa Minutters Centrifugering afpipetterede jeg det blodpladeholdige Plasma. Ved fornyet Centrifugering samledes efter nogen Tid Blodpladerne paa Glassets Bund som en linsestor, tynd Skive.

Ved forsigtig Fjernelse af Plasmaet løsnedes Blodpladekagen let, især hvis Glasset forud var blevet besmurt med Paraffinolie.

»Vævsstykket« blev, for at give Materiale nok, klippet i 4 Stykker (paraffinerede Instrumenter og Underlag), hvorefter Fixationen straks blev paabegyndt.

Overfor Blodplader, vundet paa denne Maade, foretog jeg Fixationsforsøg med følgende Væsker: Metylalkohol purissimus, vandige Sublimatopløsninger, Formalin (9 + 1), Sublimatalkohol, Dominicis Væsker, Helly-Maximows Væske og »Sublimat-Müller«.

Fixationen blev varieret fra 1, 2, 3 til 25 og 48 Timer. Herpaa fulgte Udvanding i lige saa lang Tid. Afvanding, Klaring, Indsmeltning i Paraffin, Snittykkelse og Farvemetode har i alle Tilfældene været den af mig angivne.

Denne Gang klæbede jeg paa samme Objektglas Snit af Blodplademasse, dobbelt underbundet Kar og Knoglemarv.

Hensigten hermed var, at Præparaterne dels skulde tjene til Sammenligning, dels til gensidig Kontrol, baade hvad Fixationens og Farvningens Art samt dennes Intensitet angik.

Resultatet var følgende: (Farvetavle 3, f, g, h).

Blodpladepræparaterne, fremstillet paa den ovenomtalte Maade, bestod, bortset fra enkelte Erythrocyter, udelukkende af smaa, ens store, rundagtige Legemer, der var let kantede som Følge af Sammentrykningen. Blodpladestørrelsen var ligesom Farvetonen lidt vekslende, og rettede sig efter de benyttede Fixationsvæskers Art. Legemerne var af Størrelse som ½ Erythrocyt. De var skarpt konturerede, fuldstændig ensartet byggede, idet der ikke i nogen af dem lod sig se hverken en kærnelignende, centralt beliggende Substans eller Granulahobe.

Hvadenten Fixationen havde varet kort eller lang Tid, gjorde ens Forhold sig gældende.

Det har hermed ladet sig fastslaa, at umiskendelige, isolerede Blodplader i Snitpræparater fremtræder som: ens store, regelmæssige, skarpt konturerede Legemer, der er ensartet farvede, fuldstændig manglende Granula eller Kærne.

Naar jeg ved denne Præparationsmaade ikke har fundet de i Karrene iagttagne grynede Masser, maa Aarsagen dels være, at Plasmaet er fjernet, dels at Citratopløsningen har beskyttet Blodpladerne mod Henfald i det Tidsrum, der gik forud for Fixationen.

Idet Væskerne har haft direkte Adgang til Blodpladerne, forløber Fixationen meget hurtigt. Medens de smaa, graa, halvklare Vævsstykker i første Øjeblik svømmer ovenpaa Fixationsvæsken, bliver de hurtigt hvide og synker efter ½ Minuts Forløb til Bunds.

De paa denne Maade vundne Blodplader viste med andre Ord fuld Identitet med de »hyaline« Legemer, der havde ladet sig paavise i

Snitpræparater fra Mennesker samt Kaniner, hvadenten de var normale eller Forsøgsdyr.

Manglen paa granuleret Midterparti hos Blodpladerne i Snitpræparater maa i høj Grad undre, idet dette staar i Modstrid med den gængse Opfattelse. Jeg har derfor tænkt mig den Mulighed, at Citratopløsningen enten kunde have virket hæmmende paa de azurofile Granulas Farvelighed eller destrueret dem.

Som Kontrol undersøgte jeg Udstrygningspræparater dels af den sammencentrifugerede Blodplademasse, inden Fixationen blev paabegyndt, dels af det blodpladeholdige Citratplasma, efter at dette havde henstaaet i indtil 1 Time.

Blodpladerne viste sig fuldtud at have bevaret deres Struktur, som den kendes fra Blodudstrygningspræparater, samtidig med at Formen var velbevaret og samtlige Blodplader laa isolerede, uden Tendens til Agglutination. Lignende Iagttagelser har *Le Sourd* og *Pagniez* (1906) gjort.

Til Slut skal jeg omtale Blodpladernes normale Fordeling i Organerne.

Det er en almindelig Opfattelse, at de forskellige Organer viser stor Forskel i Indhold af Blodplader. Undersøgelserne herover synes udelukkende at være blevet foretaget i Snitpræparater.

I Knoglemarv findes Blodplader meget sjældent, *(Hirschfelt* (1901), *Aynaud* (1909), *Wright* (1910), *Le Sourd* og *Pagniez* (1913), *Jolly* (1924)) eller lader sig overhovedet ikke paavise *(Naegli* (1923)). i Lymfeglandler er de faatallige *(Naegeli* (1923) *Jolly* (1924), *Foà* og *Aynaud)*. I Milten er Blodpladerne næsten konstant meget talrigt tilstede *(Jolly* (1923), *Foà* (1908), *Pappenheim-Parenusoff* (1911), *Schilling* (1913), *Le Sourd* og *Pagniez* (1913) o. a.), men til Gengæld er de her i Færd med at destrueres *(Naegeli* (1923)).

I Modsætning til de nævnte Opfattelser meddeler *Schilling*, at han ogsaa i Knoglemarven ser Blodplader i rigelig Mængde.

Aarsagen til, at Blodpladerne skulde være saa sparsomt tilstede, endda i det Organ, hvortil man har henlagt Blodpladernes Genese, tilskriver *Wright* (1910) forskellige Forhold. Det skulde dels bero

paa, at Blodet ved Organernes Udtagning flyder ud af Vævet, dels at Blodpladerne ved Cirkulationens Standsning bliver uregelmæssigt fordelt i Karrene. Naar Blodpladerne er meget talrige i Milten, skulde det til Gengæld skyldes, at dette Organ har Tendens til at ophobe corpuskulære Elementer af enhver Art.

Naar det er blevet beskrevet, at Blodpladerne er faatallige eller helt mangler i Snitpræparater fra en Del Organer, vil man kunne tænke sig forskellige Grunde hertil.

Muligvis findes der konstant visse Fordelingsanomalier, som eventuelt først bliver tydelige under Agonen, eller ogsaa har Blodpladerne af en eller anden Grund altid tidligere unddraget sig Iagttagelse ved Anvendelse af de benyttede Snitpræparationsmetoder.

Ved mine ovenfor omtalte histologiske Undersøgelser har det ladet sig fastslaa, at Blodplader optræder i samtlige Organer. Mest konstant forefindes de i dobbelt underbundne Kar.

I de Organer, hvor Blodplader f. Eks. efter Peptoninjektion maatte formodes at være særlig talrige, har Mulighederne for i Snitpræparater at finde Blodplader, ikke været større, end hos normale Dyr.

Jeg har fra alle Organer sammenlignet Blodudstrygningspræparater med Snitpræparater. Ved den førstnævnte Undersøgelsesmetode har der altid ladet sig finde Blodplader i Modsætning til, at disses Optræden i Snitpræparater stadig har vist sig vekslende. Det er aldrig lykkedes mig at paavise, at Milten normalt skulde være særlig blodpladerig. Fandtes Blodplader deri, optraadte de som Regel ogsaa i de øvrige Organer.

Det forekommer mig rigtigst at søge Aarsagen til den lunefulde Optræden af Blodplader i selve den Maade, hvorpaa Vævet præpareres. Flere Faktorer er sandsynligvis medbestemmende hertil, hvorfor jeg gennemgik de forskellige Muligheder. Det kunde saaledes tænkes, at Blodplader, i hvert Fald i visse Organer, faldt hen, inden Fixationen overhovedet var blevet paabegyndt.

En Del tyder paa, at Cirkulationens Ophør i sig selv ikke har den heldigste Indflydelse paa Bevarelsen af Blodplader. Jeg har saaledes det Indtryk, at jo senere efter Dødens Indtræden, man underbinder et Kar dobbelt, for derpaa straks at fixere det, desto sjældnere ses umiskendelige Blodplader deri.

Der vil fremdeles være Grund til at fæstne Opmærksomheden paa

Vævsudtagelsen, idet denne sikkert rummer Farer for Konserveringen af Blodpladerne i Organernes Kar. Ved Aabningen af de mange Spalterum udsættes Blodpladerne for Indvirkning af Vævsvæske. I den Tid, der hengaar inden Fixationen paabegyndes, vil i hvert Fald de Blodplader, der ligger nærmest Snitfladen, i stor Udstrækning være udsat for Henfald. Svarende hertil fandt jeg i mange Tilfælde kun Blodplader i Midten af Vævsstykkerne. Saafremt Identiteten mellem de fundne Legemer og Blodplader altid har været givet, mener jeg, at Blodpladerigdommen i Milten skyldes, at netop dette Organ (fra de alm. Laboratoriedyr) er blevet fixeret in toto eller kun skaaret i faa Stykker. Væv fra andre Organer udskæres som Regel altid med stor Overflade og ringe Tykkelse.

At Fixationsvæskerne ved deres Diffusion gennem Vævet skulde bringe Blodpladerne til Henfald, taler mine Blodpladefixationsforsøg imod. De centrifugerede Blodplader lader sig tilsyneladende alle fixere uden Henfald. Helt udelukkes kan det dog ikke, at Stabiliseringsvæsken maaske delvis har været medvirkende hertil.

Jeg regner det for givet, at Blodplader tidligere, langt oftere end formodet, har ladet sig fixere i Organerne. Naar de imidlertid ikke er blevet identificeret, kan det skyldes flere Grunde. Man har dels ikke ventet at finde Blodplader som ugranulerede, »hyaline« Legemer, dels har den ofte uspecifike Farvning bevirket, at de blaagraa Legemer ikke er traadt tydeligt frem.

Meget synes at tale for, at velbevarede, fixerede Blodplader altid lader sig farve. Formelementet viser ganske vist Farvenuancer, men den benyttede elektive Granulafarvemetode gør i den Grad Rede for alle andre Vævselementer i Snittene, at Blodpladerne vil lade sig iagttage, hvadenten de er stærkt eller svagt farvede, eventuelt ufarvede.

En ensartet Undersøgelse af Blodpladernes Morfologi og Fordeling er tidligere blevet vanskeliggjort af de grynede Udfældninger i Karrene, der i vid Udstrækning synes at være blevet antaget for granulerede Blodplader.

Resumé:

Blodpladernes Fixation og Farvning i Snitpræparater er i det foregaaende blevet undersøgt.

Det bedst egnede Materiale har hertil været dobbelt underbundne Kar eller en »Vævsmasse«, fremstillet ved Centrifugering af blodpladeholdigt Citratplasma.

Alle, almindeligt benyttede Fixationsvæsker har kunnet finde Anvendelser; disses Indvirkningstider har været mindre væsentlige. Den af mig angivne Metode gav tydelig Farvning af Blodpladerne.

Blodplader fremtræder i Snitpræparater altid som graabrune, runde eller ovale, ens store Legemer. Disse mangler azurofile Granula og viser ingen Forskel paa centrale og perifere Partier.

Lignende Iagttagelser har kun *Schilling* og enkelte andre gjort.

I Snitpræparater af Organer optræder Blodplader lunefuldt. Aarsagen hertil er ukendt, men staar antagelig i Forbindelse med Formelementets store Fragilitet. Vævsudtagelsen og Tiden, der hengaar, fra Dødens Indtræden til Fixationen paabegyndes, spiller efter alt at dømme Hovedrollen.

Skønt det maa anses for givet, at Wright o. a. har haft Opmærksomheden henledt paa mulige Fejlkilder ved Bedømmelsen af Blodplader i Snitpræparaterne, synes de alligevel at have antaget grynede Plasmaudfældninger og Blodpladebrokker for granulerede Blodplader.

Ved de ovennævnte Undersøgelser er det blevet vist, at der i Snitpræparater ikke findes Overensstemmelse mellem Megakaryocyters Protoplasma og Blodplader.

OM DEN AF WRIGHT FORETAGNE SYSTEMATISERING AF MEGAKARYOCYTERNE, SAMT DISSE CELLERS SKÆBNE I ORGANISMEN.

En Undersøgelse af Megakaryocyternes blodpladedannende Funktion maa naturligt grænse op til mange Spørgsmaal vedrørende disse Cellers Genese, Systematisering, Forekomst og Skæbne, samt mulige andre Funktioner, som Cellerne kan tænkes at udfolde.

Det vilde bringe mig langt udenfor dette Arbejdes Rammer, dersom de nævnte Problemer i større Grad skulde medinddrages i denne Analyse over Megakaryocyternes Betydning som Blodpladedannere. Jeg skal derfor indskrænke mig til i det følgende kun at berøre de For-

hold vedrørende Megakaryocyternes Morfologi, der i denne Sammenhæng maa siges at have Interesse.

De fleste af de, der har undersøgt Megakaryocyterne, giver rent objektive Beskrivelser af Cellernes Udseende udfra det Grundlag, den benyttede Teknik i det paagældende Tilfælde har formaaet at yde.

Nogle gør Kærnen, andre Protoplasmaet og en Del hele Cellen til Genstand for indgaaende Undersøgelse. Som Princip for Inddeling af de fundne Celleformer er blevet benyttet dels Forskelligheder i Kærnebygning, dels Protoplasmaets Mængde og Beskaffenhed.

De hertil benyttede Præparationsmaader har saa godt som alle været vekslende og behæftet med Mangler.

Ved Anvendelse af uspecifike eller uensartet virkende Snitfarvemetoder faas upaalidelige Oplysninger om Cellernes Granulering, ligesom ugranulerede Former let bliver overset. Benyttes Udstrygningspræparater, forrykkes Cellernes naturlige Beliggenhed. Ved de mekaniske Insulter, som Vævet tillige udsættes for, bliver Megakaryocyternes Protoplasma deformeret, reduceret eller gaar helt tabt. Findes derfor f. Eks. isolerede Kærner, er dette ikke ensbetydende med, at Kærnelegemet har været protoplasmafrit in situ.

Hvadenten Megakaryocyterne er blevet delt i 2, 3 eller 5 Arter eller man har antaget, at Cellerne besad ugranulerede Forstadier, maa alle Angivelser over Megakaryocyternes Morfologi og Systematisering modtages med stor Reservation. Den specifike Granulafarvning i Snitpræparater er af nyeste Dato og derfor ikke anvendt til tidligere Undersøgelser.

Ved at nævne: *Howell* (1891), *Heidenhain* (1894), *Foà* (1899), *Schridde* (1905, 1907) og *Pianese* (1920), har jeg anført de Undersøgere, der i Tidens Løb i særlig Grad har gjort Megakaryocyternes Morfologi og Systematisering til Genstand for nøjere Analyse.

Da ogsaa de regelmæssigt formede Megakaryocyter paa en Maade danner et Led i Wrights histologiske Bevisførelse, har Cellerne, efter Hypothesen er blevet fremsat, yderligere tiltrukket sig Histologernes Opmærksomhed.

Idet der tilkendes Megakaryocyterne den specielle Funktion, er man uvilkaarligt blevet tilbøjelig til at betragte samtlige Cellefor-

mer som yngre eller ældre Led i det blodpladedannende Megakaryocytsystem. Bedømmelsen af Megakaryocyterne har saaledes faaet et subjektivt Præg, idet man uvilkaarligt har søgt at passe de fundne Celler ind i den givne Ramme.

Paa Grundlag af Wrights Blodpladeteori har man ment, at Megakaryocyterne stræbte henimod at kunne bringe den blodpladedannende Funktion til Udfoldelse. Det er saaledes blevet antaget, at de granulerede Megakaryocyter modnedes ved Tiltagen af Celledimensionerne for paa et givet Tidspunkt ret hurtigt at miste Protoplasma i Form af smaa granulerede Legemer. Cellerne skulde herved blive stærkt reduceret i Størrelse og ende som »nøgne« Kærner, hvis Henfald foregik i eller udenfor Knoglemarven.

Wright er paa denne Maade kommet til at skelne mellem tre Megakaryocytstadier, Celler før, under og efter Bloddannelsen: 1) voksende, regelmæssigt formede, granulerede Megakaryocyter, 2) de Wrightske Figurer af forskellig Størrelse samt 3) pyknotiske, protoplasmafrie Kæmpekærner, der danner de granulerede Megakaryocyters Slutstadie.

Denne Wrights Tanke gaar mere eller mindre tydeligt igen i de Beskrivelser, Hypothesens Tilhængere giver af Megakaryocyterne.

Dette gælder, hvadenten de senere Undersøgere har tilsigtet at give rent morfologiske Beskrivelser af Megakaryocyterne *(Di Guglielmo, Pianese)*, eller man er kommet ind paa Wright-Teoriens histologiske Grundlag *(Bunting, Downey, Brown* m. fl.).

Det er lykkedes mig at vise, at Megakaryocyter fuldstændig mangler Evnen til at afgive Protoplasma i Form af smaa granulerede Legemer. Jeg har tillige set tydelig Forskel paa Megakaryocyternes og Blodpladernes Bygning, især i Snitpræparater. Som Følge heraf bortfalder egentlig Spørgsmaalet om fuldt granulerede Megakaryocyters Reduktion til protoplasmafattige Celler og »nøgne« Kæmpekærner. De Forudsætninger, hvorunder Wright har samlet de forskellige Megakaryocytformer til eet System, er tillige blevet kendelig reduceret. *Komocki* (1924) har fremdeles i Udstrygningspræparater fun-

det, at de »nøgne« Kærner altid er omgivet af en ringe Mængde granuleret Protoplasma.

Naar jeg alligevel har ønsket at komme ind paa Forholdene vedrørende Megakaryocyternes Udseende og Skæbne i Organismen, skyldes dette flere Grunde.

Det har saaledes været mig magtpaaliggende at faa oplyst, hvorvidt alle de af Wright beskrevne Celletyper findes. Det var tænkeligt, at der for de regelmæssigt formede Megakaryocyters Vedkommende ligesom ved de Wrightske Figurer har gjort sig Fejltydninger gældende.

Med Anvendelsen af forbedret Farveteknik overfor Væv, hvor Kontinuiteten er bevaret, vil man i højere Grad end tidligere have Mulighed for at træffe Afgørelse m. H. t. den normale Cellebygning og Celletyperne samt kunne vise, om de forskellige Cellearter bærer Præg af morfologisk Samhørighed. Heraf vil det fremgaa, hvor berettigede Wright-Teoriens Tilhængere har været til at sammenstille de fundne Megakaryocyter til eet System. Fremdeles giver den elektive Farvemetode gode Oplysninger om Forholdene vedrørende Megakaryocyternes Henfald.

Endelig har jeg haabet, ved at drage disse lidt mere perifere Spørgsmaal med ind i Undersøgelsesrækken, yderligere at kunne underbygge min Argumentation mod Wrights Teori.

I det følgende skal jeg beskrive de Megakaryocytformer, der lader sig se i Knoglemarvssnit fra normale Kaniner efter Anvendelse af elektiv Megakaryocytfarvning, ligesom jeg har tilstræbt at samle Megakaryocyterne i Grupper.

Jeg har fremdeles, saa vidt det lader sig gøre, ved Undersøgelse af normal Knoglemarv søgt Oplysning om Megakaryocyternes videre Skæbne.

Den Inddeling, jeg har foretaget af Megakaryocyterne, er blevet fulgt ved mine Differentialtællinger paa saavel normale Kaniner som Dyr, der har været i Forsøg.

Naar jeg ved Tælling af Megakaryocyter har skelnet mellem flere

Grupper i Stedet for at nøjes med at finde det absolutte Antal, skyldes det, at enkelte Tilhængere af Wrights Teori netop har gjort de granulerede og de ugranulerede Megakaryocyters Antal til Genstand for Undersøgelse.

Jeg har overvejet, om Megakaryocyterne bedst lod sig inddele udelukkende efter Størrelse, Form, Granulering eller Kærnebygning. Ingen af disse Maader har imidlertid vist sig praktiske eller fuldt korrekte.

Efter min Opfattelse maa der udfra rent morfologiske Synspunkter skelnes mellem 2 Hovedgrupper af Megakaryocyter, de granulerede og de ugranulerede, hver med 2 Underafdelinger, eftersom Cellerne besidder lys, kransformet eller mørk, solid, oval Kærne. For de granulerede Megakaryocyters Vedkommende bliver der endvidere Tale om, hvorvidt Cellerne er regelmæssigt eller uregelmæssigt formede.

I et ringe Antal Megakaryocyter lader der sig i Protoplasmaet se mindre Marvceller (Erythroblaster, Erythrocyter eller polynukleære Leukocyter). Paa Megakaryocytkærnens Plads findes undertiden ejendommeligt anordnede Kromatintraade, dannende Figurer, der ligner pluripolære Mitoser, eller der optræder en Samling større eller mindre mørke Kugler (Kærnehenfald?).

Betingelsen for, at en paalidelig Gruppering vil kunne foretages, maa være, at Cellerne underkastes nøje Undersøgelse i Seriesnit. Ved denne Fremgangsmaade har jeg bl. a. kunnet udelukke, at de mørke, ensartede, udelte Kærner var Segmenter af større krandsformede Kærnemasser. Tillige har jeg maattet skaffe mig Vished for, at de ugranulerede Celler, det være sig med lys eller mørk Kærne, overhovedet ingen Granula indeholdt. Visse Former af partielt granulerede Megakaryocyter vilde ellers let kunne være ramt paa en saadan Maade, at Cellerne enten syntes fuldstændig granulerede eller ugranulerede.

En skematisk Opstilling af de fundne Megakaryocytformer vil fremtræde paa følgende Maade:

1. granulerede (fuldt- eller partielt-) Megakaryocyter med:

A. kransformet, lys Kærne, (store Celler),
B. oval, solid, mørk Kærne, (forholdsvis smaa Celler).

Cellelegemets Form kan i begge Underafdelingers Celler være:
a) regelmæssig,
b) uregelmæssig. Den sidstnævnte optræder under to Former:

Wrights Figurer (= partiel Kargennemgang),
plumpe Figurer (= total Kargennemgang).

2. ugranulerede Megakaryocyter med:
1. kransformet, lys Kærne (store Celler),
2. oval, solid mørk Kærne (forholdsvis smaa Celler).
Begge disse Celleformer er mindre end de granulerede.

3. Desuden findes Megakaryocyter, som indeholder:
α Erythroblaster, Erythrocyter og polynukleære Leukocyter (Fagocytose eller Invasion?).
β Kromatintraade (Deling?).
γ Kromatinkugler (Deling, Henfald?).

Medens α findes i uregelmæssigt formede Megakaryocyter (a. og b.), ses β og γ kun i de regelmæssigt formede. De mitoselignende Figurer har jeg kunnet finde baade i granulerede og ugranulerede Celler; tidligere skal de kun have ladet sig se i sidstnævnte Megakaryocytart.

I det følgende skal jeg nærmere beskrive de forskellige Megakaryocytformer.

De granulerede Megakaryocyter.

Den ydre Form af disse Celler er tildels afhængig af Beliggenheden i Vævet. Jeg skal derfor henvise til, hvad der andetsteds er meddelt herom (p. 84—85). For de regelmæssigt formede Cellers Vedkommende varierer Størrelsen noget, men er gennemsnitlig 40 μ. Protoplasmaet forekommer snart i større, snart i mindre Mængde,

er dels granuleret, dels ugranuleret. Det indbyrdes Forhold herimellem er imidlertid stærkt svingende, hvorved det bliver muligt at opstille to Celleformer: de fuldt granulerede og de partielt granulerede Megakaryocyter.

Granula er ens store, Størrelsen nærmest som de pseudoeosinofile; der er talrigt tilstede, jævnt fordelt og efter elektiv Farvning ceriserøde — rubinrøde. Granula vil dog ogsaa kunne være ret sparsomt tilstede, enten lejret som en tynd Ring i Protoplasmaet eller halvmaaneformet omkring Kærnens ene Pol.

Granulerede Megakaryocyter begrænses yderst ude ret skarpt af en »hyalin« gulgraa Zone, hvis Bredde næsten er konstant for alle Cellestørrelsers Vedkommende. Lignende Strøg vil ogsaa kunne ses i Kærnens nærmeste Omgivelser, Farven er dog her som oftest rødlig, selv i meget tynde Snit. (Farvetavle 1, a).

I visse Tilfælde lader Granula sig se indenfor Kærneringen; de naar da som oftest tillige helt ud imod Celleperiferien (Farvetavle 1, b).

Fra den ugranulerede perifere Protoplasmabræmme afgaar undertiden i flere Rækker svagt gullige, tætstillede Dannelser, der i Udseende ligner Aktinomyceskolber (Farvetavle 2 c, længst til højre). Af hvad Art denne Krans er, 'vides ikke med Sikkerhed; *Howell* mener, det er fixeret Cellesekret. Jeg finder de ejendommelige Prominenser dels hos de uregelmæssige Megakaryocytfigurer, dels hos intravaskulært lejrede Celler. Extravaskulært lejrede Megakaryocyter, det være sig granulerede eller ugranulerede, er derimod aldrig besat med saadanne kolbeagtige Dannelser.

Partielt granulerede Megakaryocyter er Celler med meget faa Granula; disse udfylder kun et mindre Parti af Cellelegemet. Oprindelig formodede jeg, at Fremkomsten af denne Megakaryocytform beroede paa Mangler ved Farvetekniken. Efter at de imidlertid Gang paa Gang har ladet sig se Side om Side med baade fuldt granulerede og ugranulerede Celler, maa jeg anse dem for en særlig Megakaryocytform. Dette Forhold er ikke tidligere iagttaget for Megakaryocyternes Vedkommende. *Ellermann* har derimod beskrevet lignende ufuldstændig Granulering hos Myelocyter. De partielt granulerede Megakaryo-

cyter danner aldrig Wrightske Figurer. (Farvetavle 1, c, Cellen til venstre).

Kærnerne forekommer i de granulerede Megakaryocyter i to Former:

1. Den ene Art er ring- eller hesteskoformet. De er som Regel ret lyst farvede og stærkt segmenterede. Plumpe Prominenser, der indbyrdes er adskilt af smalle og ofte ret dybe Indbugtninger, staar i Forbindelse med tynde eller tykke Broer. Kærnen faar paa denne Maade et skaalformet Udseende med mange mindre Aabninger samt et større hiluslignende Parti, hvorigennem det intra- og perinukleære Protoplasma kan staa i Forbindelse med hinanden.

Den beskrevne Kærneform udgør fra $\frac{1}{2}$—$^2/_3$ af Cellelegemet og ligger centralt i Megakaryocyten. Kromatinet findes anordnet i middelstore Nukleoli; af disse ses som Regel et Par i hver Kærneudbugtning.

Er Megakaryocyterne enten i Begreb med at gaa igennem en Karvæg eller beliggende intravaskulært, vil Kærnerne som Regel have mistet det ovenfor beskrevne Udseende, idet de er blevet mere mørktfarvede, ligesom sammenpressede, rillede, ovale eller langstrakte.

2. Den anden Form, hvorunder Kærnerne i de granulerede Megakaryocyter optræder, er kun halvt saa stor som den ovenfor beskrevne, cirkulære eller ovale, meget mørktfarvede. Kærnen har ikke sjældent et facetteret Udseende, idet Kærnelegemet indenfor den ret regelmæssige ydre Begrænsning ligesom er inddelt i kantede Rum, mindende om Bikager. Felterne er ofte trekantede, med Basis vendende mod Overfladen. Der ses af og til enkelte smaa Indbugtninger, derimod aldrig noget centralt beliggende protoplasmaholdigt Parti. Celler med denne Art Kærne er gennemsnitlig ret smaa, kun omgivet af lidt granuleret Protoplasma.

De ugranulerede Megakaryocyter.

Til denne Kategori hører Celler, hvis Protoplasma er ensartet graablaat af ret lys Farve, og som mangler selv det mindste Spor af azurofile Granula.

Baade som Følge af Kærneformerne, der er som de tidligere be-

skrevne, og som Følge af det ugranulerede Protoplasmas Mængde, vil man kunne skelne mellem to Typer.

Nogle af Megakaryocyterne er af Dimensioner, som de granulerede Celler af Mellemstørrelsen. Deres Protoplasma er ret rigeligt tilstede. Kærnen er lys, kransformet, stærkt mindende om de tidligere beskrevne, omend lidt enklere bygget. (Farvetavle 2 a).

Andre Megakaryocyter er forholdsvis smaa. Kærnen er altid mørk, ret regelmæssig og optræder under lidt forskellige Former. Den kan saaledes enten være oval, undertiden besiddende fingerformede Prominenser, (Farvetavle 3, b, c, d, e), eller frembyde Lighed med et Morbær (Farvetavle 3 a), idet uens store, kugleformede Dannelser er grupperet omkring et ofte uskarpt begrænset centralt Parti. De forskellige Kærneafsnit synes ikke altid at staa i tydelig Forbindelse med hinanden.

De ovenfor beskrevne mørke Kærner er alle omgivet af en bredere eller smallere, ugranuleret, gulbrun Zone, der i det store og hele følger Kærnekonturen. Enkelte Indbugtninger i Kærnen (f. Eks. omkring de fingerformede Prominenser), udfyldes helt af Protoplasmaet. Cellerne er efter alt at dømme identiske med de »nøgne« Kæmpekærner, som Wright-Teoriens Tilhængere beskriver. Det er aldrig lykkedes mig, ved Anvendelse af den elektive Snitfarvemetode, at finde Kæmpekærner fuldstændig manglende Protoplasma.

Dersom man med Betegnelsen lymfoid Celle hentyder til Protoplasmaets Mangel paa Granula, vil alle de i sidste Afsnit beskrevne Celler kunne henregnes hertil. Gaar man derimod ud fra Kærneformen, vil kun de mindre Megakaryocyter med mørk Kærne være lymfoide. De store ugranulerede Celler maa da regnes for identiske med de af *Ferrata* og *Negreiros-Rinaldi* o. a. beskrevne Megakaryoblaster.

Det er allerede tidligere blevet omtalt, hvorledes Wright-Teoriens Tilhængere tænker sig Megakaryocyternes videre Skæbne, efter at disse Celler har udfoldet deres blodpladedannende Funktion og derved opbrugt det granulerede Protoplasma.

Ved Benyttelse af elektiv Megakaryocytfarvning er jeg blevet sat i Stand til med langt større Sikkerhed, end det tidligere har været

muligt, at træffe Afgørelse med Hensyn til Megakaryocyternes Skæbne i Organismen.

Naar jeg finder Megakaryocyter, der i Udseende viser Afvigelser fra de almindelig fundne, vil dette derfor nu kunne tilskrives Ejendommeligheder ved selve Cellen. Tidligere kunde saadanne Fund imidlertid lige saa godt være betinget af Mangler ved Farvemetoderne.

Det har været mig muligt selv indenfor begrænsede Partier af Snitpræparaterne at se alle Overgange fra maximalt farvede Megakaryocyter til svagt graarøde og næsten ufarvede, grynede. Det har tillige været muligt at skelne mellem Megakaryocyter af Udseende som de sidstnævnte og de Celler, der normalt besidder ugranuleret Protoplasma.

Jeg regner de regelmæssige eller uregelmæssige, maximalt farvede Megakaryocyter for unge, færdigdannede, fuldt normale Celler. Saasnart Kærnerne bliver blege og Granula fremtræder mindre skarpt, samtidig med at disse skifter Farve til det blaagraa, rødgraa, sætter jeg dette i Forbindelse med begyndende Henfald. I saadanne Celler har jeg hyppigt fundet talrige store eller smaa Vakuoler.

I de Megakaryocyter, der maa regnes for at være Slutstadiet, aner man stadig Cellens oprindelige Kontur. Denne er imidlertid uskarp eller frynset, ligesom Randzone og Midterparti gaar i et. Paa Kærnens Plads ses lysere eller mørkere Brokker og Huller, svarende til Kærnelegemets oprindelige Størrelse. Ofte forsvinder Kærnen førend Protoplasmaet.

Det synes, som om de store granulerede Megakaryocyter falder hen som saadanne, idet der ikke gaar nogen Formindskelse af Cellen forud herfor end sige en Afgift af Protoplasma.

De »nøgne« Kæmpekærner er nok mørke, men kun en enkelt Gang har jeg fundet dem strukturløse og diffust farvede.

Den Maade, hvorpaa de ugranulerede Celler falder hen, ligner de granuleredes, idet Cellelegemet opløses og den blege Kærne forsvinder.

Forskellige Forhold, finder jeg, taler imod, at »nøgne« Megakaryocytkærner skulde være de granulerede Megakaryocyters Slutstadie.

De granulerede Megakaryocyter mister saaledes ikke Protoplasma,

men falder hen som granulerede, regelmæssigt formede, store Celler. De »Wrightske Figurer« frembyder aldrig Tegn paa Cellehenfald.

De »nøgne« Kærner er altid omgivet af en større eller mindre Protoplasmabræmme, der som Regel er ugranuleret. Kærnerne er nok mørke, men kun meget sjældent diffust farvede.

Under normale Forhold optræder de »nøgne« Megakaryocytkærner aldrig extramedullært.

Man kan vanskeligt tænke sig, at »nøgne« Kærner skulde kunne gaa igennem Karvæggen, naar »Bevægelsesredskabet«, Protoplasmaet, var afgivet.

Efter min Mening vil man ikke kunne danne sig en Mening om deres Genese og Funktion, naar der som her kun er blevet lagt histologiske Undersøgelser til Grund.

Først efter at det ad experimentel eller klinisk Vej er blevet muligt med ufejlbarlige Undersøgelsesmetoder at iagttage Forskydninger i Cellernes Mængdeforhold vil man kunne faa Oplysninger om de forskellige Megakaryocyters Alder og Oprindelse.

Ved Omtalen af Experimenterne berører jeg Spørgsmaalet om, hvorvidt de forskellige granulerede og ugranulerede Megakaryocytformer viser Ændring i Antal og Forekomst, samt om man ved regenerative Tilstande faar Fingerpeg med Hensyn til Megakaryocytformernes indbyrdes Forhold.

Paa dette Sted skal kun fremhæves, at Wright og andre paa ingen Maade har været berettiget til, alene udfra cellemorfologiske Studier, at sammenstille store og smaa, regelmæssige og uregelmæssige Megakaryocyter til eet System.

Resumé:

I det foregaaende har jeg beskrevet de forskellige Megakaryocytformer, der lader sig se i Knoglemarven hos normale Kaniner.

Ved Anvendelse af en elektiv Snitfarvemetode har der ladet sig se baade granulerede, ugranulerede, regelmæssige og uregelmæssige Celler, hvis Kærner snart er kransformede, lyse, snart solide, ovale, mørke.

Fremdeles fandtes Megakaryocyter, der indeholdt smaa Marvceller eller ejendommelige Kromatinlegemer. Visse Celler bar Præg af

at befinde sig paa et eller andet Henfaldsstadie. Det maa antages, at alle Megakaryocyter falder hen som den Celletype, hvortil de fra første Færd hører.

Alle de Former af granulerede Megakaryocyter, der er blevet beskrevet af Wright-Teoriens Tilhængere, har ladet sig finde med Undtagelse af de »nøgne« Kærner. Dette Formelement eksisterer ikke, idet alle mørke Kæmpekærner er omgivet af en ugranuleret (eller meget smal, granuleret) Protoplasmabræmme og danner en velkarakteriseret, konstant Celletype.

Dette Forhold lader sig i Modsætning til *Komockis* Opfattelse særlig nøjagtig studere i Snitpræparater.

Det maa paa Grundlag af mine histologiske Undersøgelser af normale Kaniner anses for urigtigt, naar Wright-Teoriens Tilhængere sammenstiller alle Megakaryocyter til eet genetisk og funktionelt System.

Hvorvidt Experimenterne giver én yderligere Oplysninger i Hænde, skal jeg senere komme ind paa.

Der findes to Arter uregelmæssigt formede Megakaryocyter.

Den ene har et plumpt langstrakt eller haandvægtformet Cellelegeme. Dette svarer til, at Megakaryocyterne er i Begreb med at gaa over til de sinøse Kar.

Den anden Form er de tidligere beskrevne Wrightske Figurer. Disse Cellers Form er Tegn paa en partiel, »dissocieret« Gennemgang, i hvilken kun en Del af Cellens Protoplasma deltager.

Naar Megakaryocyterne antager den førstnævnte Form, anser jeg det som Udtryk for, at Megakaryocyterne af en eller anden Grund skifter Lokalisation. Den sidstnævnte Form forekommer mig at være Tegn paa Udfoldelse af en ukendt, specifik Cellefunktion. Dette vil kunne tænkes at være enten Optagelse eller Afgift af humorale eller corpuskulære Blodbestanddele. Megakaryocyternes totale Gennemgang indledes, saavidt det lader sig bedømme, aldrig under Former, der svarer til Wrights Figurer.

II

UNDERSØGELSER OVER MEGAKARYOCYTERNES OG BLODPLADERNES NUMERISKE FORHOLD

II.

UNDERSØGELSER OVER MEGAKARYOCYTERNES OG BLODPLADERNES NUMERISKE FORHOLD.

INDLEDNING.

Ved Undersøgelse af Megakaryocyternes og Blodpladernes Bygning havde Wright gjort Iagttagelser, der foranledigede ham til at opstille sin Teori om Blodpladernes Genese. Disse histologiske Fund har stadig dannet det egentlige Grundlag for Hypothesen. Paa forskellige Maader har man imidlertid i Tidens Løb søgt at underbygge Teorien.

Da der havde ladet sig paavise fælles morfologiske Træk hos de omhandlede to Formelementer, var det forstaaeligt, at man paa forskellig Maade søgte Støtte for den Antagelse, at der eksisterede en genetisk Samhørighed imellem dem. Interessen samlede sig saaledes blandt andet om, hvorvidt der lod sig paavise en talmæssig Overensstemmelse mellem Megakaryocyter i Knoglemarven og Blodplader i Cirkulationen. Af den historiske Oversigt fremgaar det, hvorledes dette er blevet prøvet baade gennem kliniske Iagttagelser, embryologiske og komparativ-anatomiske Studier samt Experimenter.

Ved mine tidligere omtalte Undersøgelser havde jeg faaet begrundet Formodning om, at Wright-Teoriens histologiske Grundlag var urigtigt. Jeg følte mig derfor i høj Grad fristet til at underkaste Hypothesens Hjælpebeviser en nøjere Prøvelse.

Min oprindelige Plan var at gennemgaa alle de Beviser, der indenfor forskellige Omraader er blevet fremført af Wright-Teoriens

Tilhængere. Af forskellige Grunde afstod jeg dog herfra og valgte udelukkende at søge mine Oplysninger gennem Dyreexperimenter.

Kliniske Undersøgelser over Blodsygdomme (perniciøs Anæmi og myeloisk Leukæmi) sammenholdt med Undersøgelser post mortem, vilde ganske vist i denne Sammenhæng have haft stor Interesse. Man maa imidlertid til Stadighed færdes paa Sygeafdelinger for at kunne følge Blodbilledets Svingninger under Patienternes gentagne Hospitalsophold. Meget ofte vilde man blive nødsaget til at opgive at faa Sygdomsforløbet suppleret ved Sektionsfund. Skulde man kunne danne sig et Skøn over Megakaryocyternes og Blodpladernes Forhold ved Blodsygdomme, vilde det tillige være paakrævet først at underkaste normal Knoglemarv nøjere Undersøgelse.

Jeg har fremdeles i denne Undersøgelsesrække maattet afstaa fra at medinddrage Megakaryocyter og Blodplader hos Pattedyrfostre, samt de tilsvarende Formelementer hos lavere staaende Dyreformer. Der maatte hertil kræves omfattende komparativ anatomiske-embryologiske Undersøgelser samt betydelig større Dyrematerialе, end jeg raadede over.

Paa den anden Side har der for mig været de nedenfor nævnte Grunde til at foretage experimentelle Undersøgelser over Megakaryocyternes og Blodpladernes numeriske Forhold.

Hovedmængden af de Hjælpebeviser, der igennem Tiderne er blevet fremført for Teorien, er hentet gennem Dyreforsøg. Experimenterne synes imidlertid paa forskellige Omraader at være behæftet med Mangler, som nødvendigvis maa korrigeres, inden Resultaterne deraf vil kunne tages til Indtægt for eller imod Blodpladeteorien. De benyttede Arbejdsmetoder har som oftest været unøjagtige, ligesom disses Fejlomraade ikke er blevet tilstrækkeligt fastslaaet. Afgrænsning af Megakaryocyt-Blodplade-Tallets normale Svingninger og Fastsættelse af normale Gennemsnitsværdier er sjældent blevet foretaget, i hvert Fald aldrig i passende Udstrækning. Experimenterne har som oftest været saa faatallige, at Tilfældigheder i for høj Grad har kunnet gøre sig gældende. De Forudsætninger, hvorunder Forsøgene er blevet paabegyndte, hviler ikke sjældent paa fejlagtige Opfattelser, bl. a. af de Angrebspunkter, de foretagne Indgreb var rettet imod.

Jeg mente tillige, at den experimentelle Vej maatte være den sikreste til at tilvejebringe Klarhed over den af *Wright* o. a. formodede Megakaryocytfunktion. Det vilde især paa denne Maade være muligt dels at fremskaffe Materiale af passende Omfang, dels at variere Forsøgsbetingelserne baade i den ønskede Udstrækning og paa den fordelagtigste Maade og dels at kunne gribe ind i de mest belejlige Øjeblikke.

Det blev imidlertid et Spørgsmaal, hvilke Forsøg jeg skulde anstille.

Medens *Wright* selv ikke synes at have fundet sig foranlediget til, ved Dyreexperimenter at efterprøve Teorien om Megakaryocyternes blodpladedannende Evne, har senere Undersøgere af Hypothesen derimod i vid Udstrækning benyttet sig af denne Fremgangsmaade.

Næsten alle Forsøg er gaaet ud paa at studere Blodpladeregenerationen. Ved Paavirkning enten af Ophav eller Produkt har man, saavidt den benyttede Teknik tillod det, haabet at kunne iagttage Ændringer i Megakaryocyternes Funktionsudfoldelse og Antal.

De ved tidligere Experimenter indvundne Resultater synes imidlertid snart at være blevet betragtet som Udtryk for Parallelisme, snart for Relationsforhold. Man har saaledes undladt at gøre sig klart, at der teoretisk findes en Forskel mellem disse to Forhold.

Tilsigter man direkte at paavirke Blodpladerne, staar man overfor Relationsforhold. Spørgsmaalet bliver da, om Megakaryocyterne sekundært reagerer paa Indgrebet ved en Til- eller Aftagen i Antal, samt i hvilken Udstrækning dette sker.

Ved Forsøg over Parallelisme maa de experimentelle Indgreb være rettet direkte imod Megakaryocyterne for herved at forøge eller formindske Antallet af disse Blodpladestamceller; af Interesse bliver det saa at se, om de cirkulerende Blodplader sekundært viser Svingninger synkront hermed.

Der bør ved Forsøg over det talmæssige Forhold mellem Megakaryocyter og Blodplader derfor nøje skelnes mellem to Fremgangsmaader, eftersom det tilsigtes at fremkalde en primær Indvirkning paa Blodpladestamcellerne eller paa Blodpladerne.

Skal man vente paa den mest korrekte Maade at kunne un-

dersøge Forholdene vedrørende Megakaryocytfunktionens Til- og Aftagen samt Blodpladetallets Svingninger, bliver det derfor efter min Mening nødvendigt at anvende saadanne Indgreb, der primært og udelukkende rammer eet af de omhandlede Elementer. At gennemføre dette har imidlertid, som det senere skal ses, sine Vanskeligheder, idet man ikke synes at besidde Midler til at give en sikker elektiv Virkning paa Megakaryocyter eller Blodplader. De Indgreb, der f. Eks. primært paavirker Blodpladerne, vil saaledes hurtigt beskadige Megakaryocyterne medsamt flere eller færre af de andre Celler i de bloddannende Organer. Man kommer derfor som Regel til at staa overfor en kombineret Virkning.

Tilsigter man at fremkalde en Formindskelse af Megakaryocyttallet i Knoglemarven, vil dette bl. a. kunne ske ved Røntgenbestraaling *(Fabricius-Møller)* eller Benzolinjektion *(Santesson, Selling* o. a.). Flere eller færre af Knoglemarvens øvrige Bestanddele beskadiges imidlertid derved. Det Fald, de cirkulerende Blodplader viser i Antal, vil derfor efter min Mening ikke kunne opfattes som Bevis for en genetisk Samhørighed mellem de to Formelementer. Man staar overfor en falsk Samhørighed, hvor alle Cellearters Aftagen i Antal skyldes een fælles, ydre Aarsag. Lignende Forhold gør sig gældende naar Knoglemarven efter Beskadigelsen regenererer alle sine Elementer. »Universelle« Forsøg af den ovennævnte Art kan højst give en Formodning om, at Blodpladerne har deres Oprindelse fra de hæmatopoietiske Organer.

Til at fremkalde en primær Forøgelse af Megakaryocyternes blodpladedannende Funktion findes ikke angivet Midler, der kan siges at være sikkert virkende.

De fleste tidligere anstillede Forsøg er gaaet ud paa at vise, hvorledes Megakaryocyterne forholder sig, naar Blodpladernes Antal i en kortere eller længere Periode er blevet reduceret.

Man har saaledes søgt at nedsætte Organismens samlede Blodplademængde, enten ved intravenøs Injektion af toxisk virkende Stoffer (f. Eks. Saponin) eller ved Blodudtømmelse, simpel Aareladning eller Aareladning med Geninjektion af det defibrinerede Blod). Det sidste lader sig ikke udføre uden samtidig at unddrage Organismen visse af

Blodets humorale Bestanddele, og det førstnævnte betyder et dybtgaaende Indgreb paa de bloddannende Organer. Da Blodpladetabet hurtigt maa søges dækket, vil Indgrebene kunne ventes at medføre en Accentuation af Blodpladedannelsen.

Mine experimentelle Undersøgelser paa Kaniner former sig hovedsagelig som en Efterprøvelse af forskellige, tidligere anstillede Forsøg. Paa enkelte Punkter har jeg dog prøvet at fremkalde en mere elektiv Virkning, end man tidligere har haft Held til.

Der vil i det følgende blive gjort Rede for Forsøg med:

Saponin,
Aareladning,
Aareladning og Geninjektion af det defibrinerede Blod,
Aareladning og Geninjektion af Erythrocyterne og Leukocyterne,
Pyrodin,
Pepton.

OM DEN TIL MINE EXPERIMENTER ANVENDTE TEKNIK.

ALMINDELIGE BEMÆRKNINGER.

Til samtlige Forsøg er, ligesom til Bestemmelsen af Normalværdier for Blodlegemernes og Megakaryocyternes Antal, anvendt Kaniner af forskellige Racer og gennemgaaende i Alderen fra 1—1½ Aar.

Naar denne Dyreart i saa stor Udstrækning har fundet Anvendelse, skyldes det forskellige Forhold.

Kaninernes Størrelse (og forholdsvis store Blodmængde) samt Ørekarrenes Kaliber og Lettilgængelighed har muliggjort Serieundersøgelser.

Den af mig angivne Snitfarvemetode var oprindelig blevet udarbejdet for Væv fra Kaniner. Knoglemarven hos disse Dyr var til at fremskaffe i ret rigelig Mængde og forholdsvis let at udtage, ligesom de forskellige Megakaryocytformer hos Kaniner har vist sig at være særlig tydeligt differentierede og lette at skelne fra hinanden.

Endelig er Dyrene meget medgørlige ved de ofte langvarige Forsøg, hvortil Narkotisering som Regel ikke har været ønskelig.

Det skal tilføjes, at jeg enkelte Gange, nærmest til Kontrol, har be-

nyttet voksne Katte. Disse vil imidlertid aldrig kunne fremskaffes i større Antal. Ulemperne ved den nødvendige Narkotisering er store, ligesom Dyrene har maattet tøjres paa særlig Maade for herved at lette Indfangningen ved gentagne Indgreb.

Marsvin er kun benyttet til enkelte orienterende Blodundersøgelser og Megakaryocyttællinger.

Kaninerne er altid før Forsøgenes Begyndelse blevet nøje undersøgt, og har under disse været isolerede i ret rummelige Træbure. Dyr, der gjorde Indtryk af at være særlig fede, blev ikke anvendt, idet denne Tilstand ofte falder sammen med sygelige Processer bl. a. i Nyrerne. Baade Hanner og Hunner er blevet anvendt. Som Følge af en gennemført Isolation er det forhindret, at sidstnævnte er blevet gravide under Forsøgene, eller har været det i den forudgaaende Tid.

Foderet har altid bestaaet af Brød(affald), Havre og Hø; tillige om Vinteren Roer og Gulerødder, om Sommeren Græs og Kaal.

Ved Blodundersøgelser og andre mindre Indgreb, hvortil Ørekarrene er blevet benyttet, har Dyrene været anbragt i særlige Trækasser à la »Gabestok«. Ved større Indgreb, f. Eks. Operation paa Halskarrene, har Udspænding paa Kaninbord været nødvendigt.

Æther er aldrig blevet anvendt, specielt da Dyrene med forbavsende Tolerance fandt sig i selv Smaaoperationer paa Muskler og Kar.

Meget sjældent har det været nødvendigt at anbringe Forsøgsdyrene i elektrisk Varmekasse.

De til Blodundersøgelse benyttede Prøver er som Regel taget fra Ørerandvener. Undertiden har det været ønskeligt at undersøge Blod fra Hjertet. Efter at Dyrene var blevet dybt bedøvede med Nakkeslag, aabnede jeg hurtigt Thorax og punkterede h. Ventrikel med vid, skarp, paraffineret Kanyle.

Dyrene er alle dræbt ved Nakkeslag, idet kun en enkelt Kanin er død af sig selv. Sektionen er foretaget i Tilslutning hertil og paa følgende Maade:

Efter Inspektion af de naturlige Aabninger flaas Dyret, og Pelsen undersøges fra den profunde Side; ligeledes undersøges Muskula-

turen og de serøse Hulheder. Thorax- og Abdominalorganerne undersøges nøje makroskopisk, og til Mikroskopi udtages Væv fra Lunge, Milt, Lymfeglandler, Lever, Nyre. Desuden vejes Milten.

Udtagelse af Knoglemarven fra Femur og Corpora vertebrarum kræver særlig Omhu. Knoglerne befris for Muskulatur, Ligamenter, Periost, Epifyser og Processer. Femurs og Tibias maximale Længde maales.

Angaaende den videre Undersøgelse af Knoglernes Marv henvises til Afsnittet om Megakaryocyttælling. (pp. 156—158).

Alt Væv er fixeret og viderebehandlet efter den af mig angivne Metode.

OM TEKNIKEN VED BLODUNDERSØGELSERNE.

I dette Afsnit skal jeg omtale de Fremgangsmaader, jeg har benyttet til Undersøgelse af Erythrocyter, Blodplader og eventuelle i Cirkulationen optrædende Megakaryocyter. Ved næsten alle Forsøg er i hvert Fald de to førstnævnte Formelementer daglig blevet undersøgt.

En Bestemmelse af de røde Blodlegemers Hæmoglobinindhold og Antal har forholdsvis let ladet sig udføre, idet almenkendte, gennemprøvede Metoder her staar til ens Disposition. Angaaende Megakaryocytbestemmelsen i Blodbanen skal jeg kort omtale de to Fremgangsmaader, jeg har forsøgt at anvende hertil.

Udfra de Synspunkter, der laa til Grund for Paabegyndelsen af dette Arbejde, og som Følge af de Krav, der maatte stilles til den nummeriske Opgørelse af Blodpladerne, har jeg i særlig Grad fæstnet min Opmærksomhed paa Forholdene vedrørende Tekniken ved Blodpladetælling.

Det Tællingsprincip, jeg fra første Færd ønskede anvendt, var ikke tidligere benyttet til Serieundersøgelser paa Kaniner. Nye Tællemetoder, der blev angivet, medens de første af mine Experimenter blev anstillet, maatte gennemprøves, før de ved visse Ændringer kunde antage en for mine Forsøg hensigtsmæssig Form. Tælling af Blodplader har derfor nødvendiggjort omfattende Undersøgelser, som jeg i det følgende ret indgaaende skal omtale.

Om Undersøgelse af Erythrocyterne.

Undersøgelse af Erythrocyterne omfatter:

1) Hæmoglobinbestemmelse, 2) Erythrocyttælling.

Blodprøverne er taget paa den tidligere anførte Maade ved Prik i Ørerne, lige efter Prøverne til Blodpladetælling. I det Øjeblik, Blodet hastigt strømmede ud, afpipetterede jeg først Prøven til Hæmoglobinbestemmelse, derpaa til Erythrocyttælling. Efter nøjagtig 1 Minuts Henstand fortyndede jeg det saltsure Hæmatin for straks efter at aflæse Skalaen. Jeg opnoterede de Fortyndingsgrader, der antydningsvis var mørkere eller lysere end Kontrolglassets Farvestyrke, den egentlige Angivelse var Middeltallet heraf. Paa disse Maader har jeg tilstræbt at gøre Bestemmelsen med Sahli' Apparat saa ensartet og korrekt som mulig, idet de Variationer, som »Efterformørkelsen« ved Henstand vil kunne medføre, er søgt undgaaet.

Ved Experimenternes Slutning blev Hæmometeret korrigeret i Forhold til defibrineret Kaninblod (*Meulengracht* og *Grams* hæmatologisk Teknik p. 22). Korrektionen var 1,14.

Metodens Nøjagtighed blev undersøgt ved 2 Tibestemmelser paa Standardblod. Dette blev vundet ved Punktur af h. Hjertehalvdel fra 2 normale Kaniner og stabiliseret med 10 % Natriumcitrat i Forholdet (9 + 1). Før hver Afpipettering rystede jeg energisk den stabiliserede Blodprøve i ca. 1 Minut for derigennem at modvirke begyndende Sedimentering.

Jeg fandt følgende Værdier (korrigerede):

Kanin 1. 63 — 64 — 63 — 63 — 64 — 62 — 64 — 63 — 63 — 64. Middeltal: 63,3; Middelfejl 1,05 %.

Kanin 2. 63 — 62 — 62 — 63 — 63 — 62 — 64 — 63 — 62 — 63. Middeltal 62,7; Middelfejl: 1,06 %.

Til Sammenligning kan anføres, at *Fabricius-Møller* ved en lignende Fremgangsmaade finder 1,3 og 1,1 %.

Tælling af Erythrocyter er udført efter den af *Ellermann-Erlandsen* angivne Metode.

Da Fremgangsmaaden maa anses for velkendt, skal jeg ikke nær-

mere komme ind paa Beskrivelsen deraf. Til Tællingen er anvendt Thoma-Zeiss' Kammer. Paafyldningen har fundet Sted med Benyttelse af det i *Meulengracht* og *Grams* hæmatologiske Teknik beskrevne Haandgreb, hvorved Blodlegemesuspensionen ved Kapillærvirkning fordeles ligeligt i Kammeret.

Selve Tællingen er udført efter et Par Minutters Forløb og foretaget i 10 store Kvadrater.

For at bestemme den Nøjagtighed, hvormed Metoden virkede, har jeg foretaget 2 Titællinger paa de 2 ovenforomtalte Standardopløsninger.

Kanin 1. 805 — 840 — 837 — 790 — 816 — 810 — 815 — 807 — 856 — 817. — Middeltal: 819,3; Middelfejl: 2,4 %.

Kanin 2. 835 — 813 — 820 — 854 — 845 — 809 — 815 — 821 — 797 — 788. — Middeltal: 819,7; Middelfejl: 2,5 %.

Middelfejlen svarer i begge Tilfælde paa det nærmeste til den af *Jørgensen* fundne 2,5 % efter Tælling af ca. 1000 Erythrocyter).

Efter *Fabricius-Møllers* Bestemmelser ligger Middelfejlen mellem 2,6 % og 2,9 % (efter Tælling af ca. 1400 Erythrocyter).

Om Tekniken ved Blodpladetællingerne.

I.

Naar talrige Metoder gennem Tiderne er blevet angivet til Blodpladetælling, maa dette ses som Udtryk for, at de Vanskeligheder, der er forbundet hermed, foruden at være store kun delvis har ladet sig afhjælpe.

Det normale Blodpladetal hos Mennesker og Dyr er, som en naturlig Følge heraf, blevet angivet meget forskelligt efter de benyttede Fremgangsmaader. Selv efter samme Metode har den numeriske Opgørelse vist meget svingende Resultater. Man har heraf været tilbøjelig til at drage den Slutning, at Blodpladerne skulde indtage en Særstilling indenfor Blodets formede Elementer ved normalt at kunne vise Variationer paa opimod flere hundrede Procent. Det forekommer mig imidlertid at være rigtigere, om dette ses som et Bevis for Mangelfuldhed ved de benyttede Metoder.

De fleste tidligere Fremgangsmaader til Blodpladetælling er baseret paa de samme Principper, som anvendes til Tælling af røde og hvide Blodlegemer. Endskønt Blodtagningen og Tællingens Udførelse ikke rummer mange Variationsmuligheder, beror Fremkomsten af talrige Modifikationer paa de til Stabilisering og Fortynding benyttede Væsker. Man har herved søgt at mindske det Blodpladehenfald, der under Forberedelse til Blodpladetælling næsten konstant lod sig iagttage.

Da *Thomsen* i 1919 angav en ny Metode til Blodpladetælling, betød dette et stort Fremskridt. Tidligere Metoders Mangler er ved denne søgt omgaaet, og de Forhold, hvorunder Blodpladerne findes i Cirkulationen, er bibeholdt, saavidt dette er foreneligt med sikker Stabilisering. Der er fremdeles draget Nytte af den Forskel, der gør sig gældende mellem røde og hvide Blodlegemers og Blodpladers Sedimenteringsevne i stabiliseret Blod.

Udførelsen skal kort refereres:

En Enkeltprøve paa 4,5 cm^3 Blod vindes ved Venepunktur og drypper direkte ned i et graderet Glas med 0,5 cm^3 (10 % eller) 3 % Natriumcitratopløsning. Efter Omrystning henstilles Prøven til Sedimentering i en eller flere Timer. En ringe Mængde af det blodpladeholdige Plasma øverst i Prøven fortyndes derpaa med fysiologisk NaCl (i passende Forhold, rettende sig efter Blodpladetætheden, men dog som Regel 1+20). Den direkte Blodpladetælling foretages i Thoma-Zeiss' Kammer efter ¼—½ Times Forløb. Efter samtidig foretagen Volumenbestemmelse af de røde Blodlegemer omregnes de i Plasmaet fundne Blodpladetal til at gælde pr. mm^3 Blod.

Metoden har i de forløbne Aar fundet stor Udbredelse bl. a. i Kliniken. *Wittkower* (1921) prøvede den ved kliniske og experimentelle Undersøgelser. *Fabricius-Møller* (1922) har anvendt den overfor Marsvin og fandt hos disse Dyr 900.000 Blodplader pr. mm^3 Blod. Derimod synes der ikke at være meddelt Undersøgelser over Metodens Fejlomraade. I den af *Gram* og *Meulengracht* udgivne hæmatologiske Teknik anslaas Middelfejlen til 5 %.

I 1923 angav *Thomsen* en Mikrometode for om muligt at sidestille Tælling af Blodplader med de for andre Blodlegemer gældende Fremgangsmaader.

Tællingerne skulde herved være blevet nemmere at udføre samtidig med, at det for Makrometoden gældende Princip fik forøget Anvendelse.

Udførelsen er følgende:

Efter Afpipettering af 0,09 cm³'s Blodprøve, vundet gennem Hudsnit, foretages Blanding med Stabiliseringsvæske (i samme Forhold som tidligere nævnt) paa Objektglas eller i Dværgreagensglas. Blodet opsuges i Kapillærrør og sedimenteres ved Henstand. Tælling foretages i een Plasmaprøve, enten efter Fortynding eller ufortyndet i Thoma-Zeiss' Kammer ($^1/_{10}$ mm højt).

Samtidig med, at Metoden blev offentliggjort, meddelte *Als* Resultaterne af en Gennemprøvelse deraf samt Undersøgelser over Fejlomraadet. Det lykkedes ham at bringe Middelfejlen ned til 10 % og 8 % for Tælling i henholdsvis fortyndet og ufortyndet Plasma. Det fremgik endvidere, at Metoden var ret vanskelig at udføre paa fuldt korrekt Maade. Der maa saaledes højst forløbe 8 Sekunder fra Blodets Opsugning i Pipetten, indtil Stabiliseringen har fundet Sted.

Endnu synes Mikrometoden ikke at være blevet benyttet i Kliniken. *Andersen* har søgt den anvendt ved nogle faa Experimenter med Rotter nogen Tid efter, at jeg havde tilraadet Brugen af visse Modifikationer af Metoden.

II.

Af det store Antal Tællemetoder, der staar til ens Disposition, har jeg af flere Grunde valgt at benytte det af *Thomsen* angivne Princip til mine Experimenter.

Denne Metode tager mere end nogen anden Hensyn til Blodpladernes Egenskaber. Den direkte Tælling er mere tiltalende end den indirekte, idet man herved gør sig mindre afhængig af andre Faktorer. Da Metoden har staaet sin Prøve for Menneskenes Vedkommende, følte jeg tillige Trang til ogsaa at søge den anvendt dels paa normale Laboratoriedyr, dels paa saadanne, hvor der forelaa experimentelt fremkaldte Tilstande.

Paa det Tidspunkt, da jeg paabegyndte mine Undersøgelser, var Mikrometoden imidlertid endnu ikke blevet angivet. Ønskede jeg der-

for det af *Thomsen* angivne Princip benyttet, maatte det være under Form af Makrometoden.

Naar denne ikke tidligere var blevet anvendt overfor Dyr i saa vid en Udstrækning som paa Mennesker, skyldes det sikkert, at de overfladiske Vener maa være blevet anset for uanvendelige til gentagen Blodprøvetagning med Kanyle, ligesom den Enkeltprøve, der kræves, er meget stor i Sammenligning med Dyrenes totale Blodmængde.

Hensynet til Blodudtømmelsens Hastighed og det Tab, den 5 cm³ Prøve repræsenterer sammenlignet med Dyrets totale Blodmængde, stillede mig derfor paa daværende Tidspunkt overfor Valget: Blodtagning med Kanyle fra Hjertet eller ved Hudsnit. Benyttede jeg, ligesom *Fabricius-Møller*, den førstnævnte Fremgangsmaade, holdt jeg mig ganske vist til de givne Forskrifter med Hensyn til Udførelsen, men regnede med, at Serieundersøgelser hos samme Dyr herved blev udelukket. Blev der lagt Hudsnit, ændrede jeg den oprindelig angivne Maade til Blodtagning, hvorved der aabnedes Muligheder for Stabiliserings- og Tællevanskeligheder. Dersom Dyrets Størrelse var en saadan, at det ikke døde i umiddelbar Tilslutning til Fjernelsen af 5 cm³ Blod, eller gentog jeg selv Tællingerne flere Dage i Træk, gav svære Anæmiseringssymptomer sig hurtigt tilkende. Forsøgsresultaterne sløredes herved i større eller mindre Grad.

Disse Forhold bevirkede, at jeg kun kunde bringe *Thomsens* Makrometode til Anvendelse i den Forsøgsrække, hvor jeg netop tilsigtede Anæmisering.

Jeg bestemte mig i Begyndelsen til at tage 5 cm³ Blodprøve gennem Hudsnit.

Til Trods for at denne Ændring i Tekniken, som det senere har vist sig var meget vovet, specielt for saa stor en Blodprøves Vedkommende, gennemførte jeg dog i 33 Dage et Anæmiseringsforsøg med daglig Blodundersøgelse hos en voksen Kanin. Tilsidst maatte jeg dog afbryde Forsøget, idet der indtraadte uoverstigelige Stabiliseringsvanskeligheder, muligvis som Følge af de Forandringer, der ledsagede den anæmiske Tilstand. Jeg havde daglig taget 4 Blodprøver à 4,5 cm³ svarende til, at Dyret ved Aareladning daglig skulde miste ca. 20 cm³. Som oftest var mindst een af Prøverne nogenlunde anvendelig.

Ved den daglig foretagne Bedømmelse af Prøverne under og efter Sedimenteringen fik jeg Øjet op for, hvor mange Overgange, der kunde findes fra brugbare til fuldt koagulerede Blodprøver. Disse Iagttagelser er senere kommet mig til Gode ved Udvælgelse af Plasmaprøver, vundet bl. a. efter Thomsens Mikrometode.

Blodpladernes Udseende og Antal svarede i dette Forsøg væsentlig til, hvad jeg kunde vente efter den Beskrivelse, *Fabricius-Møller* har givet. Jeg antog derfor, at det var en fuldt korrekt Iagttagelse, naar Kaniners Blodpladetal ligesom Marsvins, laa betydeligt over Menneskers. Ligesom ovennævnte Undersøger iagttog jeg endvidere Blodplader af forskellig Størrelse, lige fra smaa lysende Punkter til Legemer af Størrelse som ½ Erythrocyt. Formen var ogsaa varierende og ret ofte optraadte traadformige Dannelser, der flygtigt set godt kunde tænkes at ligne lange Megakaryocytpseudopodier.

Af ovennævnte Grunde var det forbundet med store Vanskeligheder at afgøre, hvad der skulde regnes for regulære Blodplader, ligesom Tællingerne blev meget anstrængende at udføre.

Senere har jeg indset, hvor ukorrekte disse Tællinger har været, idet Fremkomsten baade af de høje Tal og Traadene i Plasmaet skyldtes en af Vævsvæsketilblandingen betinget partiel Koagulation.

Selv om jeg, i Haab om at opnaa paalidelige Middeltal, daglig havde talt 8—10.000 Blodplader, har de Forsøgsresultater, jeg indvandt med den nævnte Tællemetode, senere maattet anses for uanvendelige til at give korrekte Oplysninger om Blodpladesvingningerne ved Blødningsanæmi.

Det blev imidlertid efterhaanden ønskeligt ogsaa at anvende Tælling ved andre Forsøg end experimentel Blødningsanæmi; Blodprøvetagningens anæmiserende Virkning maatte derfor indskrænkes det mest mulige.

I dette Øjemed reducerede jeg Blodprøvens Størrelse til 1 cm^3. Der lod sig herved straks spore en større Ensartethed i Blodpladernes Størrelse og Form, hvorved Tællingen lettedes en Del. Aarsagen hertil var, at man lettere gennem Hudsnit fik hurtig og ensartet Blodudtømmelse ved smaa end ved store Blodprøver. Aareladningssymptomerne traadte tillige stærkt i Baggrunden. Det var endvidere en

Fordel, at man, hvis det var ønskeligt, kunde disponere over flere Blodprøver, idet en Udvælgen herved tillige blev muliggjort.

III a.

Da Meddelelsen om Mikrometoden fremkom, gik jeg straks over til Brugen af den nye Metode, idet dens Fortrin paa Forhaand maatte anses for at være store. Man vilde nu blive sat i Stand til at kunne foretage Enkeltundersøgelser paa Dyr helt ned til en Vægt af ca. 20 gram og i Serier paa Kaniner og Marsvin i alle Størrelser. Det maatte tillige formodes, at der i det højeste vilde optræde svage Anæmiseringssymptomer i Tilslutning til Serieundersøgelser.

Jeg søgte først at erhverve mig en vis Færdighed i Mikrometodens Udførelse, og under Indøvelsen heraf forekom visse Smaaændringer mig at være paakrævet (sml. p. 132).

Omend de tidligere omtalte Stabiliseringsvanskeligheder nu var blevet noget reduceret, udviste Blodpladerne i det fortyndede Plasma stadig vekslende Størrelse. Tællingen var derfor ikke alene vanskeliggjort, men de vundne Resultater maatte i høj Grad drages i Tvivl.

Først og fremmest søgte jeg klarlagt, om denne Størrelsesforskel, saavel under normale som experimentelle Tilstande var et intra- eller extravaskulært Fænomen.

Ved i Tørpræparater og i Tællekammer at undersøge fortyndet og ufortyndet Plasma, ved at ændre Udtømmelseshastigheden og Hudsnittets Dybde, ved at tage Blodpræparater samtidig fra Hudsnit og med paraffineret Kanyle fra Hjertet, blev det mig klart, at Blodpladernes Størrelses- og Formændringer først optraadte extravaskulært.

Det interesserede mig derfor at undersøge, hvoraf dette var betinget, samt paa hvilket Tidspunkt det optraadte.

Selve Fortyndingens Indflydelse blev prøvet paa det blodpladeholdige Plasma, for at se om de dertil benyttede Væskers Art og Mængdeforhold spillede nogen afgørende Rolle.

Forskellige Salte er blevet anvendt baade ublandet, blandet, i forskellige Styrker og Mængdeforhold samt ved vekslende Temperaturer.

Natriumklorid, -sulfat, -fosfat, Kalium- og Dikaliumfosfat, Magniumsulfat; desuden Deetjens Fortyndingsvæske (ɔ: en vandig Opløsning af Natriumklorid, Mangansulfat, Natriumkarbonat samt ringe Mængde Amylen) og den af Deetjens benyttede Saltkombination, der tilsættes Agar ved Undersøgelse af Blodpladernes Bevægelsesevne (ɔ: en vandig Opløsning af Dikaliumfosfat og Natriummetafosfat).

Fremdeles prøvede jeg Fortynding med:

Serum og Citratplasma (bl. a. ogsaa fra det samme Dyr), Glukoseopløsninger, Gummisaltvand, »Gummi-Ringer«, Æggehvide med eller uden Tilsætning af Salte og Glycerin.

Jeg skænkede dernæst de Procedurer, der gik forud for Fortyndingen, Opmærksomhed.

Da Blodtagningen gennem Hudsnit var uundgaaelig, søgte jeg at reducere Vævsvæsketilblandingen det mest mulige ved at foretage mit Indstik gennem en Paraffindraabe i stærkt dilateret Ørevene.

Endvidere kunde Stabiliseringens Art tænkes at fremkalde en vis Skørhed hos Blodpladerne og derigennem gøre dem mindre modstandsdygtige. I forskellige Koncentrationer og Kombinationer prøvede jeg derfor Citrat-, Oxalat- og Hirudinopløsning. En 10 % Natriumcitratopløsning viste sig at være bedst.

Intet af de omtalte Midler havde kunnet bevare Blodpladernes Størrelse uforandret efter Fortyndingen. Jeg prøvede derfor, hvorvidt det var muligt at bibringe Blodpladerne større Modstandsevne. Til Stabiliseringsvæsken eller Fortyndingsvæsken tilsatte jeg fixerende Stoffer (Dominicis Væsker, Formalin, Sublimat, Osmiumsyre, Kaliumcyanid, Kaliumbichromat m. m.), idet jeg haabede herved at kunne hindre Blodpladehenfaldet.

Det fremgik af de ovenomtalte Forsøg, at Blodpladerne ikke taalte Forandring af det Medium, hvori de normalt er suspenderede, udover, hvad Stabilisering med 10 % Natriumcitratopløsning (i Forholdet 9 + 1) medfører.

Efter Fortynding med højst forskellige Væsker kunde altid paavises Blodplader af vekslende Størrelse. Dersom man kunde gaa ud fra, at Vævsvæsketilblandingen kun havde været ringe gennem Hudsnittet, optraadte disse Forandringer først i Fortyndingsøjeblikket. Havde Vævsvæsketilblandingen derimod været rigelig, gav en veks-

lende Blodpladestørrelse sig allerede tilkende i det ufortyndede Plasma, men øgedes betydeligt ved Fortyndingen. Det maatte som Følge heraf anbefales altid kun at tælle i tynde Lag ufortyndet Plasma.

Idet Blodpladehenfaldet ved en tidligere Lejlighed havde vist sig ogsaa at kunne indtræffe ved Fortynding af de ved Venepunktur vundne Plasmaprøver, maatte dette tyde paa, at Blodpladerne herved direkte lod sig beskadige. Osmotiske Forandringer var muligvis Aarsag hertil.

Naar Blodvindingen var foregaaet gennem Hudsnit, var tilsynelalende normale Blodpladers Modstandsevne overfor Væskeforandringer blevet stærkt formindsket. Hertil kom, at nogle Blodplader allerede i Udtømmelsesøjeblikket var faldet hen. Det maatte endvidere anses for uheldigt, indenfor samme Forsøg snart at anvende Tælling i fortyndet, snart i ufortyndet Plasma.

I det følgende skal jeg omtale *Thomsens* Mikrometode i den Form, hvori jeg en Tid benyttede den.

Større Dyr anbringes i Trækasse (»Gabestok«). I det omhyggeligt rensede Øre klippes med spids Saks et fint Hul saaledes, at en større Venestamme rammes. Denne er umiddelbart forud bragt til at træde stærkt frem ved Gnidning med toluolvædet Tampon. Ved mindre, i Rygleje udspændte Dyr benyttes Halsens overfladiske Vener, gjort tilgængelige gennem et lille Hudsnit. Hurtig Opsugning af det med passende Hastighed udstrømmende Blod med den fra 0,01—0,1 inddelte, vædede Pipette. Udpustning, Blanding med Stabiliseringsvæske ((9 + 1), 10 % NaCitrat) samt Sedimentering foregaar i Dværgreagensglas, forsynet med Glaskugle og tætsluttende Gummiprop. Herved opnaas: mindre Fare for Fordampning, hurtig og fuldkommen Blanding samt Forenkling af Fremgangsmaaden, idet tillige den Risiko, der er forbundet med Opsugning i Kapillærrør, undgaas. Glassene henstaar paa køligt Sted til Sedimentering i 1½—3 Timer — nødigt længere. Man vil da altid let med fint udtrukket Pipette kunne faa rigelig Plasma fra den ringformede »Sø«, der staar omkring den forholdsvis store Glaskugle. Tællingen foregaar i lavt Kammer (Thoma-Zeiss, $^1/_{20}$ mm højt). Til hver Undersøgelse tages et Par Prøver.

Senere kom jeg ind paa at lægge et noget større Antal Prøver til Grund for hver Blodpladebestemmelse. Aarsagen hertil var, at der, fra den ene Prøve til den anden, hos samme, normale Dyr havde vist sig Svingninger baade i Blodpladernes Udseende og Mængde.

Dette gav Anledning til, at jeg dels undersøgte de Variationer, der kunde gøre sig gældende m. H. t. Blodpladeindholdet i samtidig tagne Prøver, dels den Indflydelse, Henstand havde paa Blodpladetætheden i de enkelte Prøver. Flere Gange tog jeg 50—60 Prøver og undersøgte, hvorledes disses Udseende var efter flere eller færre Timers Forløb. Selv om Fremgangsmaaden ved Blodtagningen og de derpaa følgende Procedurer syntes at have været ensartet og upaaklagelig, optraadte alligevel konstant Koagulation i nogle Glas og forskellige Grader af Sedimentering i andre. Kun et mindre Antal Prøver var fuldt anvendelige. Til Trods for, at Plasmaet havde været ensartet graat og Grænselinien mellem Plasma og Erythrocyter skarp, kunde der dog ofte ved den mikroskopiske Undersøgelse vise sig at være stor Forskel paa Blodpladestørrelsen, eventuelt ogsaa Agglutination.

Skulde Blodpladerne kunne anses for fuldt anvendelige til Tælling (i det ufortyndede Plasma), maatte der stilles visse Krav til dem. Det maatte forlanges, at de ikke alene stammede fra makroskopisk upaaklagelige Prøver, men at de ved Undersøgelse i Tællekammer viste sig som ens store, runde eller ovale, skarpt konturerede, lysbrydende Legemer, der efter højst ½ Times Forløb alle laa jævnt fordelt paa Kammerets Bund.

Ved disse Iagttagelser kom jeg derfor ind paa at foretage en nøjagtig gennemført makroskopisk og mikroskopisk Bedømmelse af de Blodprøver, der skulde benyttes til Tælling. Den væsentligste Betingelse for Opnaaelse af paalidelige og ensartede Resultater syntes saaledes at bero paa en kritisk Udvælgen af Plasmaprøverne. De store Svingninger, jeg tidligere havde set i Blodpladetallet, naar kun et Par Prøver var blevet benyttet, maatte saaledes have beroet paa begyndende Koagulation.

Det vil være forstaaeligt, at Forsøg paa Titælling med Mikrometoden, saaledes som den oprindelig var blevet angivet, gav Middelfejl paa omtrent 50 %.

Titælling efter den modificerede Mikrometode gav derimod det nedennævnte Resultat.

Kanin, gulbrun, ♀. Vægt 2850 gram. Sahli 92. Erythrocyter: 5.100.000.

780 — 809 — 762 — 635 — 767 — 940 — 470 — 955 — 1076 — 965;
Middeltal: 815,9; Middelfejl 21,75 %.

Det overraskede mig meget at finde en saa forholdsvis høj Fejlprocent til Trods for den gennemførte makroskopiske og mikroskopiske Udvælgen af Plasmaprøverne. Skulde Fejlen ved Blodpladetællingerne holdes indenfor passende Grænser, nødsagedes jeg derfor til ved hver Undersøgelse at foretage 5 Tællinger fra lige saa mange udvalgte Prøver. Det blev saaledes en Regel, at jeg tog 24 Blodprøver pr. Gang; af disse var omtrent Halvdelen makroskopisk brugbare og 6—8 ogsaa mikroskopisk fuldt anvendelige til Tælling.

Til Trods for at jeg havde taget det størst mulige Hensyn til de Faktorer, der kunde ventes at mindske Resultatets Sikkerhed, var Mikrometoden destoværre alligevel blevet behæftet med visse Ulemper. Dens Anvendelighed overfor Mennesker og Dyr blev herved indskrænket i større Grad end ønskeligt. De mange Blodprøver, der maatte tages til hver Undersøgelse og den Udtømmelseshastighed, der krævedes hertil, bevirkede, at hver Blodpladetælling medførte et ikke ringe Blodtab for Dyret.

De Fordele, man havde haabet, Mikrometoden vilde frembyde, gik saaledes tabt, ligesom de samme Ulemper som Makrometoden besad, gjorde sig gældende overfor mindre Dyr. Man var saaledes atter udelukket fra at kunne benytte mindre Dyreformer til Serieundersøgelser.

Metoden krævede fremdeles ikke alene Rutine, som det tog nogen Tid at opnaa, men var meget anstrængende og langvarig, idet hver Blodpladebestemmelse lagde Beslag paa 4—5 Timer. Lagde man megen Flid for Dagen, lod det sig dog kun gøre daglig at undersøge et Par Dyr.

De absolutte Blodpladeværdier laa for lavt, hvilket lod sig vise ved et mindre Antal Kontrolundersøgelser, hvor Blodprøven blev taget ved Venepunktur fra Hjertet.

Fremgangsmaaden rummede paa den anden Side den Fordel, at der blev aabnet én Mulighed for at udvælge de til Tælling bedst egnede Prøver.

III b.

Angaaende Aarsagerne til Blodpladetallets store Svingninger indenfor de 5 udvalgte Prøver, kunde man kun have Formodninger.

De højeste Tal kunde tænkes fremkommet ved, at et vist Antal Blodplader var faldet hen i flere Fragmenter. Forekomsten af de laveste Tal beroede muligvis paa, at nogle Blodplader enten adhærerede til Glassene eller var sporløst forsvundet.

Blodpladernes ensartede Størrelse og Form samt Teknikens tilsyneladende korrekte Udførelse talte dog herimod.

Ved Undersøgelser over experimentelle Blødningsanæmier blev jeg imidlertid opmærksom paa et Forhold, der syntes at kunne give en vis Forklaring.

I stabiliserede Blodprøver fra normale Individer var Grænselaget mellem de sedimenterede Erythrocyter og det blodpladeholdige Plasma skarpt. Ved Anæmier blev denne Linie sløret, idet der i Stedet for optraadte et lyserødt uskarpt begrænset Lag. Jo længere den anæmiske Tilstand havde varet, desto bredere blev Laget. Medens det nederste Lag i Blodprøven næsten udelukkende bestod af normalt konturerede Erythrocyter, det øverste, graa Lag af ens store Blodplader, fandt jeg i det lyserøde Grænselag for Størstedelen Erythrocyter, der næsten alle gjorde Indtryk af at være besat med blodpladelignende Prominenser.

Det drejede sig efter alt at dømme om Adhæsion i ret stor Stil mellem visse Erythrocyter og Blodplader, ligesom Bindingen maatte formodes at komme i Stand under den stabiliserede Blodprøves Henstand.

I Betragtning af den diametralt modsatte Evne, der findes hos de omhandlede to Elementer til at holde sig suspenderede, vil man kunne tænke sig, at Blodpladerne tjener som »Vinger« for nogle af Erythrocyterne. De saaledes udstyrede vil blive sinket i Sedimenteringen og herved kunne give sig tilkende som det lyserøde Grænselag. Ved lang Henstand blev Laget reduceret til et tyndt og ret skarpt begrænset.

Idet jeg gik ud fra, at denne Forklaring af Fænomenet maatte være korrekt, søgte jeg at hindre Bindingen i at finde Sted. Jeg

ventede herved, at Blodpladernes Antal vilde blive større og muligvis kun vise mindre Differenser indenfor de 5 Prøver.

Først forsøgte jeg Tælling i meget tyndt Lag Blod straks efter Stabiliseringen. Selv Helber-Glyns $^1/_{50}$ mm høje Tællekammer var uanvendeligt, idet Erythrocyterne laa meget tæt og i flere Lag.

Kunde derimod Erythrocyternes Passage ned gennem fuldt stabiliserede Blodprøver paaskyndes, antog jeg, at Muligheden for Adhæsion mellem disse og Blodpladerne vilde mindskes. I dette Øjemed benyttede jeg Centrifugering.

Ved nogle foreløbige Undersøgelser paa en Kanin sammenlignede jeg Blodpladetal vundet ved 5 Tællingerne med de, der stammede fra faa, centrifugerede Blodprøver. Tillige søgte jeg Oplysning om, hvorledes Blodpladetallene varierede indenfor et større Antal samtidig tagne Blodprøver, naar Centrifugeringen var traadt i Stedet for Sedimentering ved Henstand.

Resultatet blev, at jeg ved den stærkt paaskyndede Bundfældelse af de røde og hvide Blodlegemer fik betydelig højere Blodpladetal end før (indtil det dobbelte). Tillige saas ved fuldstændig korrekt Blodudtømmelse kun smaa Differenser fra Prøve til Prøve. Dersom Blodet var blevet udtømt saa hurtigt, det overhovedet var muligt, syntes een centrifugeret Prøve at være tilstrækkelig. Metoden kom herved til kun at lægge Beslag paa kort Tid og rummede meget ringe Mulighed for at medføre generende Anæmiseringssymptomer.

Jeg besluttede mig derfor til at udforme og gennemarbejde en Metode til Blodpladetælling, hvor Centrifugering (af enkelte Prøver) traadte i Stedet for Sedimentering ved Henstand (af mange Prøver).

Til yderligere Udformning af Metoden prøvede jeg forskellige Centrifugeringstider og -hastigheder. Derved bestemte jeg, hvor meget der krævedes til lige akkurat at slynge alle Erythrocyter mod Bunden, inden det samme ogsaa gjorde sig gældende for Blodpladernes Vedkommende.

Jeg kom saaledes ind paa at benytte en ny Tællemetode, der ganske vist stadig byggede paa *Thomsens* Princip, men som i Udførelse paa væsentlige Punkter fjernede sig fra de tidligere angivne Maader. Fremgangsmaaden er følgende: Det med størst mulig

Hastighed udstrømmende Blod opfanges under stadig Omrystning direkte i ½ eller 1 cm³. graderede Dværgreagensglas med henholdsvis 0,05 eller 0,1 cm³. 10 %'s Natriumcitratopløsning (Glaskugle og Gummiprop!). Derpaa følger omgaaende Centrifugering (maximale Omdrejningshastighed pr. Minut ca. 5000 Gange; ¼ Min. til halv Fart, ¼ Min. til hel, ¼ til halv og ¼ Min. til at standse). En ringe Plasmamængde paafyldes straks direkte det $^1/_{20}$ mm høje Tællekammer. Blodpladerne vil efter 20 Minutters Henstand være ensartet lejret paa Bunden, færdige til Tælling (i 8 smaa Kvadrater). Fraregnet Sedimenteringen tager hele Undersøgelsen kun 5—10 Minutter. Blodpladetallene gælder pr. mm³ Citratplasma.

Metoden er blevet anvendt overfor Blodprøver, der baade er vundet gennem Hudsnit og ved Venepunktur. Til Størstedelen af mine Forsøg har jeg benyttet den første Fremgangsmaade, kun et mindre Antal Gange Karpunktur. I sidstnævnte Tilfælde punkterede jeg med særlig tilslebet Kanyle enten Halsens overfladiske Vener eller Ørerandvenerne.

For at kunne danne mig et Begreb om, hvorledes denne Fremgangsmaade, der blev Hovedmetoden ved mine Experimenter, virkede, foretog jeg 6 Titællinger. Herved vilde jeg tillige kunne faa Oplysning om, hvormange Blodprøver der var nødvendige til hver Blodundersøgelse.

Til Bestemmelsen af Fejlomraadet ved Metoder til Blodlegemetælling har man benyttet Standardopløsninger for herigennem at kunne være sikker paa, at Tællingen blev udført paa en konstant Blodblanding. (*Ellermann—Erlandsen, Jørgensen, Als* o. fl.). I Overensstemmelse hermed maatte i det foreliggende Tilfælde blodpladeholdigt Citratplasma være min Standardopløsning.

Ifølge det tidligere nævnte bør der imidlertid ved Blodpladetælling nøje skelnes mellem Blodprøver vundet gennem Hudsnit og ved Venepunktur. Ved den sidstnævnte Fremgangsmaade holder Blodpladerne sig alt ialt uforandrede i længere Tid. I det førstnævnte Tilfælde viser Blodpladerne, foruden vekslende Sedimenteringsevne — der i denne Sammenhæng er uden Betydning — Tendens til fra Time til Time at undergaa større eller mindre Ændringer i Antallet. Heraf fremgaar, at man kun vil kunne regne med en uforanderlig

Standardopløsning, naar Væsvæsketilblanding helt har ladet sig udelukke.

For at kunne bestemme Middelfejlen ved Tælling fra Blodprøver vundet ved Hudsnit maatte jeg derfor hurtigst muligt, 10 Gange i Træk, gentage samtlige Procedurer lige fra Blodtagningen til Tællingen. Den herved fundne Middelfejl vil saaledes blive et Maal, ikke alene for selve Tællemetodens Nøjagtighed, men bl. a. tillige for de Variationer, som ukontrollerbare Forandringer i Væsvæsketilblandingen vil kunne fremkalde i Blodprøvernes Indhold af Blodplader.

Titælling (naar Blodprøverne var vundet gennem Hudsnit).

For at faa et Maal for, hvorledes Centrifugeringsmetoden virker under normale og experimentelt fremkaldte Tilstande, har jeg udført de nedenfor beskrevne Titællinger.

Efter at have erhvervet mig den ønskede Færdighed i at benytte Metoden foretog jeg to Titællinger paa normale Kaniner. Efter nogen Tids Forløb indskød jeg en Dag ved et af Forsøgene en Titælling. Jeg valgte hertil det mest ugunstige Objekt, der lod sig finde, idet Metoden blev prøvet paa en Kanin, der i en Ugestid daglig var blevet aareladt for en temmelig stor Blodmængde. Hos et saadant Dyr viser der sig efter faa Dages Forløb en stærk Stigning i Blodets Koagulationstendens, hvilket gør det vanskeligt at faa tilfredsstillende Stabilisering.

1. Titælling.

Normal Solvkanin, ♀. Vægt 1880 gram. Sahli 63. Erythrocyter 3.805.000.
Blodplader:

670 — 622 — 533 — 704 — 570 — 577 — 547 — 671 — 600 — 594;
Middeltal: 608,8*); Middelfejl 9,4 %.

2. Titælling.

Normal, harefarvet Kanin, ♂. Vægt 2040 gr., Sahli 83. Erythroc. 5.170.000.
Blodplader:

1024 — 930 — 757 — 888 — 1033 — 1063 — 915 — 940 — 1009 — 979;
Middeltal: 953,8; Middelfejl: 9,4 %.

---

*) Ved disse og senere Tællingsforsøg angives Blodpladerne i Tusinder pr. mm³ Citratplasma.

3. Titælling.

Kanin (5. Aareladningsforsøg).
Blodplader:

702 — 909 — 616 — 678 — 711 — 739 — 706 — 605 — 712 — 830;
Middeltal: 720,8; Middelfejl: 12,7 %.

Titælling (naar Venepunktur var benyttet til Blodprøvetagningen).

Standardopløsningen blev fremstillet paa følgende Maade:

Med paraffineret, kort Metalkanyle udtømte jeg af stærkt dilateret Ørerandvene et Par cm³ Blod. Efter Stabilisering med 10 % Natriumcitratopløsning (i Forholdet 9 + 1), centrifugerede jeg som sædvanlig, indtil alle Erythrocyter lige havde naaet Bunden. Det blodpladeholdige graa Citratplasma blev afpipetteret i et Dværgreagensglas med lille Glaskugle og tætsluttende Gummiprop. For hver Paafyldning af Tællekamrene rystedes Blandingen i 1 Minut. Tællingerne blev udført efter den tidligere angivne Regel.

Sølvkanin, ♂, Vægt 2060 gram, Sahli 76, Erythrocyter 5.310.000 (sml. iøvrigt p. 166). Blodplader:

4. Titælling:

429 — 398 — 366 — 368 — 365 — 389 — 369 — 422 — 349 — 356;
Middeltal: 381,1; Middelfejl: 7,2 %.

5. Titælling:

347 — 399 — 417 — 361 — 395 — 415 — 396 — 357 — 367 — 348;
Middeltal: 380,2; Middelfejl: 7,1 %.

6. Titælling:

395 — 358 — 355 — 416 — 393 — 435 — 352 — 393 — 348 — 383;
Middeltal: 382,8; Middelfejl: 7,7 %.

For bedre at kunne sammenligne Blodpladetallene har jeg altid baseret mine Blodpladebestemmelser (naar Hudsnit var benyttet) paa to samtidig tagne Prøver. Svarende hertil bliver Middelfejlen: 9,4, 9,4 eller 12,7 divideret med $\sqrt{2}$, hvilket omtrent svarer til den ved de sidstnævnte Titællinger fundne Middelfejl.

Forskellige Forhold har i Tidens Løb bragt mig til at ændre min oprindelige Opfattelse af, hvad Aarsagen var til det vekslende Blodpladeindhold i samtidig tagne Plasmaprøver, naar Hudsnit var blevet benyttet.

Det lyserøde Grænselag optraadte saaledes ved Anæmier baade

naar Blodet var vundet gennem Hudsnit og Venepunktur. Da Vævsvæsketilblanding i sidstnævnte Tilfælde var udelukket, maa Adhæsionsfænomenets Fremkomst snarest bero paa intravaskulære Blodforandringer, der sandsynligvis optræder ved den nævnte Tilstand.

Anvendte jeg den modificerede Thomsen-Metode overfor normale Individer, optraadte det lyserøde Grænselag aldrig, hvorimod de vekslende Blodpladetal stadig lod sig se i de 5 udvalgte Prøver. Det maatte derfor antages, at der var en Forbindelse mellem den Maade, hvorpaa Blodprøverne blev taget og Talforskellenes Tilsynekomst.

Jeg anstillede fremdeles forskellige Forsøg paa nøjere at præcisere Centrifugeringsmetoden. Det blev saaledes undersøgt, hvor lang Tid der uden Skade kunde hengaa, inden Blodprøverne blev centrifugerede, inden Plasmaprøverne efter Centrifugering blev paafyldt Tællekammeret, samt om der var Forskel herpaa, naar Hudsnit eller Venepunktur var benyttet til Blodtagningen.

I de Tilfælde, hvor Hudsnit var benyttet, undergik Plasmaet fra Tid til anden de samme Forandringer med Hensyn til Blodpladeholdigheden, som jeg tidligere havde set, naar Sedimentering ved Henstand var blevet anvendt. I nogle af de paa samme Tidspunkt tagne Prøver blev Plasmaet efter Centrifugering saaledes fuldstændig klart allerede efter 3—4 Timers Forløb i andre først efter 8—10 Timer. I de Prøver, der fra første Færd havde indeholdt store Mængder Blodplader, naaede disse Formelementer senest Bunden; det omvendte Forhold lod sig ogsaa se. Den Forskel, som Blodpladerne saaledes viste i deres Evne til at holde sig suspenderede i Plasmaet, maatte tilskrives den uundgaaelige Vævsvæsketilblanding under Blodprøvernes Tagning. De nævnte Forandringer lod sig nemlig ikke se efter Venepunktur; Plasmaets Blodpladeholdighed forblev her konstant i lang Tid.

Oprindelig havde jeg ikke skænket et muligt Sammenhæng mellem Plasmaprøvernes Blodpladeholdighed og Blodpladernes Sedimenteringshastighed større Opmærksomhed. Nu, da den tidligere fremsatte Forklaring af Aarsagen til det vekslende Blodpladeindhold forekom mig ufyldestgørende, fik det nævnte Forhold paany Interesse.

Det fremgaar heraf, at de Forudsætninger, hvorunder jeg oprin-

delig benyttede Centrifugering til Paaskyndelse af Sedimenteringen, ikke har været korrekte. Jeg er imidlertid alligevel ved denne Fremgangsmaade blevet bragt udover de tidligere nævnte Vanskeligheder.

Saavidt det lader sig bedømme, staar man overfor to Fænomener, der er uafhængige af hinanden:

Blodplade-Adhæsionen til Erythrocyterne (set ved Anæmier baade naar Hudsnit og Venepunktur er benyttet) og Forandring i de isolerede Blodpladers Sedimenteringsevne (kun naar Hudsnit er anvendt).

Det vekslende Blodpladeindhold i Plasmaprøverne skyldes (saavel naar den modificerede Thomsen-Metode som naar Centrifugerings-Metoden er blevet benyttet), at Blodprøverne, som Følge af Vævsvæsketilblanding fra første Færd i sig rummer Mulighed for at kunne vise stor Forskel i Blodpladernes Sedimenteringsevne.

Sammenfattes det tidligere nævnte, vil de beskrevne Forhold altsaa lade sig forklare paa følgende Maade:

I Blodprøver, vundet ved Hudsnit, vil der altid gøre sig Forskel gældende med Hensyn til Blodpladernes Sedimenteringsevne.

Disse Variationer i Plasmaets Blodpladeholdighed er uundgaaelige, selvom Tekniken ved Blodtagningen synes fuldstændig ensartet, og Vævsvæsketilblandingen er reduceret til det mindst mulige. Jo længere Tid der hengaar, efter at Blodprøverne er blevet taget, desto tydeligere vil disse Forskelligheder i Plasmaets Blodpladeholdighed give sig tilkende.

Naar derfor Sedimenteringen af Erythrocyter fremskyndes ved Centrifugering, og Tællekamrene fyldes umiddelbart herefter, vil man næsten fuldstændig kunne undgaa , at disse Forskelle giver sig tilkende. Heri maa man se Aarsagen til Centrifugeringsmetodens Overlegenhed. Henstaar de centrifugerede Blodprøver flere eller færre Timer, vil Forskellen i Blodpladeholdighed gøre sig i den Grad gældende, at 5-Tælling er nødvendig for at opnaa en passende lav Fejlprocent. Forekomsten af det lyserøde Grænselag og den Forskel, som Plasmaprøverne udviser ved Henstand, synes altsaa ikke at være betinget af den samme Faktors Indflydelse.

Om Tekniken ved Undersøgelse af Megakaryocyters Forekomst i det cirkulerende Blod.

Megakaryocyter skal under Experimenter og pathologiske Tilstande kunne optræde saavel i Cirkulationen som i Organerne. Jeg har derfor ønsket at danne mig et Skøn over, hvorvidt det var muligt at paavise disse Celler i Blodet under mine Experimenter, samt i hvor stort Antal, de eventuelt optraadte heri. Tidligere Undersøgere har hertil benyttet flere eller færre Udstrygningspræparater. Da der imidlertid højst medgaar ½ Draabe Blod til hvert Præparat, kommer kun smaa Blodmængder til Undersøgelse. Megakaryocyttallet maa derfor være meget stort, for paa denne Maade at kunne give sig tilkende.

En anden Fremgangsmaade forekom mig at maatte være mere formaalstjenlig. Dersom de i en vis Blodmængde optrædende Megakaryocyter lod sig samle paa et begrænset Omraade, maatte Paavisningen blive baade lettere og sikrere. Jeg søgte derfor at drage Nytte af, at Megakaryocyterne dels lader sig farve elektivt i Snitpræparater, hvorved de bliver lette at identificere, dels maa antages at være de røde og hvide Blodlegemer overlegne i Sedimenteringsevne.

Igennem længere Tid har jeg overfor Kaniner anvendt følgende 2 Fremgangsmaader:

1. Ved den ene Metode har jeg behandlet det udtømte Blod som et Vævsstykke, idet den af *Schmorl* anførte Teknik er blevet lagt til Grund.

5 cm³ Blod udtømmes direkte i 100 cm³ »Sublimat-Müller«. Ved kraftig Omrystning hindres Blodlegemerne under Fixationen i at klumpe sig sammen til grynede Masser. Efter 1 Døgns Fixation foretages Udvanding i store Kolber med almindeligt Vand. Efter flere Døgns Henstand heri passerer Blodlegemerne under gentagen Centrifugering gennem stigende Alkoholkoncentration til Xylol.

Efter Behandling i flere Hold Xylol og Paraffin bringer man (ved Centrifugering i varme Glas og Metal-Beholdere) Blodlegemerne til at sedimentere.

For at lette Udtagningen af »Vævsblokken« kan Glæsset enten opvarmes eller i hver Ende være aflukket med Gummipropper.

Som Ulemper ved Metoden maa anføres, at

Præparationen er meget langsom og besværlig, idet der især er Vanskelighed ved at faa fra centrifugeret Xylolen. Den til Undersøgelse paakrævede Blodmængde er saa stor, at gentagne Undersøgelser medfører Anæmiseringssympto-

mer; Metoden vil derfor kun kunne bruges faa Gange, specielt ved Slutundersøgelse.

2. For at gøre Paavisningen hurtigere og enklere prøvede jeg følgende Fremgangsmaade:

Stabiliseret Blod (5—30 cm³) henstilles i 30 cm³ Skilletragt i ca. 2 Timer. Det dybest staaende Lag udtømmes draabevis og benyttes til Udstrygningspræparater.

Den elektive Megakaryocytfarvning vil kunne benyttes hertil, idet man fixerer de fugtige Udstrygningspræparater i »Sublimat-Müller« og som sædvanlig farver efter 1 Døgns Udvanding i rindende Vand.

Præparaterne vil i forholdsvis kort Tid og i ret stort Antal kunne gennemsøges (med Krydsbord og mellemstærkt Objektiv + Okular 4).

Omend disse Fremgangsmaader rummer Mangler, er de dog blevet benyttet til mange af mine Experimenter som supplerende Undersøgelse. I de Tilfælde, hvor større Blodmængder daglig skulde udtømmes, anvendte jeg undertiden kun den førstnævnte Metode, undertiden begge. Netop ved Anæmier maatte man vente at kunne finde Megakaryocyter i Cirkulationen, idet disse Celler i Snitpræparater af Lunger altid optræder ret rigeligt i Kapillærerne.

OM TÆLLING AF MEGAKARYOCYTER I SNITPRÆPARATER.

I.

Af de Undersøgere, der i Tidens Løb har beskæftiget sig med Megakaryocyternes Morfologi, har nogle ogsaa gjort Forsøg paa at bestemme disse Cellers Antal *(Schridde, Pianese)*. Det er dog især efter at Wright har fremsat Formodningen om et Afhængighedsforhold mellem Blodplader og Megakaryocyter, at man har ønsket nøjere at fastslaa de sidstnævntes numeriske Forhold *(Bunting, Ogata, Firket, Fabricius-Møller)*.

I de hæmatologiske Haandbøger samt i Specialafhandlingerne findes kun faa og usikre Oplysninger om Tælling af Megakaryocyter samt disse Cellers Antal. Dette staar antagelig i Forbindelse med, at Meningerne om Værdien af en saadan Opgørelse har været delte, uanset den Betydning, dette kunde have for Wright-Teorien.

Nogle Undersøgere gør overhovedet ikke Megakaryocyttælling til Genstand for Omtale, og andre regner det for umuligt at angive disses Antal blot tilnærmelsesvis korrekt.

En Del har bestemt Megakaryocyttallet udfra et rent subjektivt Skøn. De paa denne Maade indvundne Resultater har nogle af Wright-Teoriens Tilhængere tillagt afgørende Betydning, uden at det har staaet dem tilstrækkelig klart, hvor store Mangler en saadan Fremgangsmaade maatte være behæftet med.

En nøjagtig Opgørelse af de smaa Knoglemarvsceller maa paa Forhaand anses for umulig, idet man f. Eks. for Erythroblasternes Vedkommende er henvist til at skønne om, hvorvidt Cellehobene er større eller mindre, flere eller færre end normalt. Med Megakaryocyterne forholder det sig imidlertid anderledes. Visse Forhold, der gør sig gældende for denne Celleforms Vedkommende, begunstiger en Tælling. Efter elektiv Farvning vil alle Cellerne, som Følge af deres Størrelse og ejendommelige Bygning, træde tydeligt frem. Da det relative Antal i Snitpræparater som oftest er ringe og Lejringen i Vævet som oftest spredt, lader de enkelte Elementer sig dog altid let uddifferentiere.

Naar det paa den anden Side er blevet hævdet, at Vanskelighederne ved Megakaryocyttælling er store bl. a. som Følge af betydelige Variationer i Cellernes Fordeling, forekommer den Side af Sagen mig at være et Spørgsmaal, som Tællemetoden bør kunne løse.

Enkelte Undersøgere har følt Trang til at benytte en mere eksakt Angivelsesmaade i Erkendelse af Ufuldkommenhederne ved de ovennævnte Undersøgelsesmetoder. Direkte Tælling har de anset for særlig egnet hertil. Man har bestemt enten Forholdstallene eller de absolutte Værdier, dels i Udstrygnings-, dels i Snitpræparater fra Knoglemarv.

Schridde (1907) finder ved Benyttelse af begge de ovenanførte Fremgangsmaader til Vævsbehandling Forholdstallene mellem de forskellige af ham beskrevne Megakaryocytformer.

Firket (1922) følger i Udstrygningspræparater de Svingninger, granulerede og ugranulerede Megakaryocyter undergaar efter Injektion af Saponin.

Pianese (1922) anser det ikke for muligt blot tilnærmelsesvis at bestemme det absolutte Megakaryocyttal i Knoglemarv. Han mener, at Resultatet af Undersøgelser over Megakaryocyternes Til- og Afta-

gen bør modtages med stor Reservation, naar Udstrygningspræparater har dannet Grundlaget. Han indskrænker sig til i Snitpræparater kun at skønne over det relative Forhold mellem de 5 af ham opstillede Megakaryocyttyper.

Kun ganske faa synes udelukkende i Knoglemarvssnit at have undersøgt Megakaryocyternes Antal.

Wright (1906) mener, der findes en talmæssig Overensstemmelse mellem Megakaryocyter og Blodplader. Han omtaler imidlertid ikke nærmere de hertil benyttede Undersøgelsesmetoder eller gør Rede for Resultaterne.

Bunting, *Ogata* og *Fabricius-Møller* har foretaget Megakaryocyttælling i Snitpræparater og ikke alene angivet de dertil benyttede Fremgangsmaader, men ogsaa meddelt de indvundne Resultater.

Da jeg havde til Hensigt ved mine Dyreforsøg bl. a. at bestemme Megakaryocyternes absolutte Antal, har jeg først og fremmest søgt at danne mig et Skøn over Arten og Paalideligheden af de Metoder, som ovennævnte tre Undersøgere har benyttet.

Bunting (1909) foretager, som den første, systematisk Tælling af Megakaryocyter i Snitpræparater. Knoglemarven tages fra den midterste $^1/_3$ af Femur hos Kaniner, og til Vævsbehandlingen synes han at have benyttet: Fixation i Kogsalt-Sublimatopløsning eller Zenkers Væske; Farvning med Wrights Farve eller Hæmatoxylin-Eosin. Antallet af Megakaryocyter angives pr. 1 mm² fra 5 μ tykke Snit.

Ogata (1912) tæller Megakaryocyter i højst 4 μ tykke Snit. Som Fixationsmiddel er benyttet Formol-Müller; Farvning er foretaget a. m. Schridde. Megakaryocyterne beregnes pr. Synsfelt; dettes Størrelse anføres imidlertid ikke.

Fabricius-Møller (1922) prøver i Begyndelsen af sine Undersøgelser rent skønsmæssigt at bestemme Megakaryocyternes Mængde i Knoglemarvssnit (af forskellig Tykkelse) fra Marsvin. Senere gaar han over til at foretage Tælling. Fixationsmidlerne har dels været 10 % Formalin-Alkohol, dels Helly-Ellermanns Væske med efterfølgende Farvning med Hansens Hæmatoxylin-Eosin og Granulafarvning a. m. Ellermann. Idet *Fabricius-Møller* ved den talmæssige Op-

gørelse af Megakaryocyterne følger de Regler, der ellers gør sig gældende paa Celletællingens Omraade, undersøger han bl. a., hvor stor Metodens Middelfejl er. (Se senere). *Fabricius-Møller* udfører Megakaryocyttælling paa følgende Maade: I 2 forskellige Snitpræparater, altid paa 5 μ og fra samme Lokalisation (distale Del af Femurdiafysen), bestemmes fra hvert Snit Megakaryocyttallet i 25 Synsfelter (à 0,21 mm's Diameter).

Alle tre ovennævnte Undersøgere synes at have erkendt, hvor store Vanskeligheder der er forbundet med en korrekt talmæssig Opgørelse af Megakaryocyterne og dermed ved Fremskaffelsen af Normaltal.

Baade *Bunting* og *Ogata* gør tillige opmærksom paa de Variationer, Megakaryocyttallet kan undergaa som Følge af Alder og Lokalisation. Som det ses, har Angivelsesmaaderne for de gennemsnitlige Megakaryocyttal, ligesom de benyttede Fixations- og Farvemetoder, været forskellige.

Skulde jeg kunne haabe paa ved mine Undersøgelser at drage Nytte af de ovenanførte Metoder, maatte den af *Fabricius-Møller* angivne blive den foretrukne. Denne Fremgangsmaade tager i størst Udstrækning Hensyn til de Krav, der bør stilles til Udførelsen af Megakaryocyttælling, ligesom der tilvejebringes større Ensartethed i Snitpræparationen samt Sikkerhed i Opsøgningen og Angivelse af Cellerne.

For at kunne danne mig et Begreb om, hvorledes *Fabricius-Møllers* Metode alt i alt virkede, foretog jeg 2 Titællinger paa Marsvin, idet de givne Forskrifter nøje blev fulgt.

Marsvin, Vægt: 400 gram.

1. 68 — 90 — 94 — 120 — 99 — 97 — 96 — 84 — 117 — 138;
   Middeltal: 100,3; Middelfejl: 19,9 %.
2. 97 — 95 — 108 — 99 — 95 — 94 — 88 — 103 — 113 — 100;
   Middeltal: 99,2; Middelfejl: 7,3 %.

Det fremgaar heraf, at jeg faar samme Middelfejl, men betydelig større Middeltal end *Fabricius-Møller,* idet denne finder:

1. Middeltal: 36; Middelfejl ca. 7,4 %.
2. » 14; » » 17,1 %.

Af flere forskellige Grunde følte jeg imidlertid Trang til ved en 3. og 4. Titælling at undersøge, om Middelfejlen hyppigst laa omkring det højeste eller det laveste af de fundne Tal. Tællemetoden maatte siges at være brugbar, dersom det sidste var Tilfældet.

Under Forberedelserne til de ovennævnte Titællinger, samt ved Udførelsen deraf kom det til at staa mig klart, at Fremgangsmaaden rummede visse Mangler.

Udtagelsen af Knoglemarv hos Marsvin er forbundet med noget Besvær. Hos disse Dyr findes, i Modsætning til Kaninerne, en temmelig intim Forbindelse mellem Endost og Marvcylindren, hvorfor især de perifere Marvpartier let vil kunne gaa tabt. Megakaryocyternes Fordeling indenfor Knoglemarven har vist sig noget vekslende, idet man ofte finder Cellehobe beliggende enten perifert eller centralt. Et større eller mindre Tab af Knoglemarvsvæv vil derfor kunne bevirke betydelige Fejl ved den talmæssige Opgørelse.

Det forekommer mig tillige at være det heldigste, om Snittene altid er rene Tværsnit. Længde- eller Skraasnit vil kunne komme til at ramme i Vævspartier, hvor der findes enten særlig mange eller meget faa Megakaryocyter.

Idet en specifik Megakaryocytgranulafarvemetode ikke tidligere har været angivet, anser jeg det for temmelig givet, at lidet granulerede eller ugranulerede Celler ofte maa være blevet overset.

Myelocyter og Myeloblaster kan være lejret i Grupper og herved ofte ligne Megakaryocyter. Lader nemlig de tynde Forbindelsesbroer mellem stærkt segmenterede Megakaryocytkærner sig ikke se i Snittene, vil Segmenter af den stærkt lapdelte Kærne kunne frembyde Lighed med de smaa Marvcellers Kærner.

Naar jeg har fundet høje, absolutte Tal, skyldes dette formodentlig, at jeg har haft Øjet aabent for de ovennævnte Forhold. Paa den anden Side er det ikke umuligt, at Variationerne i Megakaryocyternes Antal normalt er store. Er dette Tilfældet, maa det regnes for en Mangel, at der ikke er blevet tilvejebragt Normaltal før man har truffet Afgørelse med Hensyn til Experimenterne Resultater.

Resultatet af 3. og 4. Titælling a. m. *Fabricius-Møller* var følgende (samme Vævsblokke blev benyttet som i 1. og 2.):

3. 94 — 121 — 114 — 107 — 122 — 85 — 90 — 66 — 107 — 80;
Middeltal: 98,6; Middelfejl: 18,9 %.
4. 128 — 110 — 122 — 95 — 113 — 83 — 98 — 77 — 105 — 97;
Middeltal: 102,8; Middelfejl: 15,7 %.

Skønt der saaledes ved denne Metode er blevet lagt 50 Synsfeltundersøgelser til Grund for hver Megakaryocytbestemmelse, faar man alligevel en temmelig høj Fejlprocent. Dette maa ses som Tegn paa, at Fabricius-Møllers Metode ikke i tilstrækkelig Grad har taget Hensyn til de normale Variationer i Megakaryocyttallet og dermed ikke arbejder med saa stor Nøjagtighed, som jeg anser for paakrævet.

Den ovenfor omtalte Metode syntes som Følge heraf ikke at kunne anvendes til de Undersøgelser, jeg agtede at foretage.

II.

I det følgende skal jeg gøre Rede for de af mig anstillede Forsøg paa at angive én til mine Undersøgelser velegnet Megakaryocyttællemetode. Det har saaledes været nødvendigt at prøve, 1) hvor stort et Antal Synsfeltundersøgelser, der bør lægges til Grund for hver Megakaryocytbestemmelse, 2) hvilken absolut og relativ Lokalisation indenfor Knoglemarven, Snitpræparaterne skal have og 3) hvormange Synsfelter, man skal undersøge i hvert Vævssnit.

Ret tilfældigt valgte jeg at tælle Megakaryocyterne i 500 Synsfelter, for med denne konstante Faktor at gennemprøve de Variationsmuligheder, der iøvrigt kunde blive Tale om.

Min Opmærksomhed blev hovedsagelig rettet paa, hvorledes Snittene skulde fordeles indenfor Knoglemarvscylindren. Jeg skar derfor Snitpræparater enten i Serie eller med vekslende indbyrdes Afstand.

Endvidere prøvede jeg mig frem for at finde en passende Fordeling af Synsfeltantallet indenfor de forskellige Snit. Ved Størstedelen af Tællingsforsøgene har jeg undersøgt 100 Synsfelter fra hver Lokalisation; senere er jeg dog gaaet over til 50.

Der maatte fremdeles lægges Vægt paa, at Tekniken ved Vævsbe-

handlingen fra først til sidst blev udført i nøje Overensstemmelse med Forskrifterne for saaledes at muliggøre Ensartethed i Bedømmelsen.

Mine Tællingsforsøg falder i 4 Afsnit:

1. »Seriemetoden«.
2. a) »1-Stykmetoden«,*)
   b) »5-Stykmetoden« α
   c) »5-Stykmetoden« β.

Materialet til Tællingerne har været Knoglemarv fra 3 halvvoksne Kaniners Underextremiteter.

Fra det Dyr (Nr. 1), der har dannet det væsentligste Grundlag for mine Tællingsforsøg, udtog jeg Marven baade paa højre og venstre Side. I hele Femur og i de proximale $^2/_3$ af Tibia var denne rød, i det distale Afsnit derimod ensartet gul.

Jeg har endvidere undersøgt en Kanin (Nr. 2) for at faa Oplysninger om visse Forhold vedrørende Megakaryocyternes Antal og Fordeling.

Til Slut foretog jeg paa en tredie Kanin en Titælling for herigennem at sætte den Metode, jeg maatte anse for mest anvendelig, paa en endelig Prøve.

Vævsbehandlingen og selve Tællingernes Udførelse skal jeg senere omtale. Paa Forhaand lod der sig ikke sige noget bestemt om Megakaryocytholdigheden i de forskellige Knoglemarvsafsnit. Jeg formodede imidlertid, at denne var mere eller mindre jævnt aftagende i distal Retning og nummererede derfor de Stykker, hvori hver Knoglemarvscylinder var blevet delt. Ved at stikke en kort Svinebørste igennem hvert »Segment«s proximale Ende, lod det sig tillige altid senere afgøre, hvilke Snit, der havde ligget nærmest Truncus.

Kanin 1.

Harefarvet, ♂, Vægt: 695 gram, Sahli: 67.

Blodpladetælling (udført efter Thomsens Mikrometode i dens oprindelige

---

*) Betegnelsen »1-Stykmetoden« og »5-Stykmetoden« er fremkommet derved, at Knoglemarvens Længde hos Kaniner som Regel er 5 cm. Til Undersøgelserne ansaa jeg det for mest hensigtsmæssigt at arbejde med 1 cm. lange Stykker.

Form og med Anvendelse af Fortyndìng). Jeg talte fra 2 Blodprøver (3 × 5 store Kvadrater fra hver): 804,334.

H. Femurs maximale Længde var 5,3 cm.

1. Ved »Seriemetoden« bestemte jeg Megakaryocyternes Antal i 5 × 100 Synsfelter. De 5 Præparater, der benyttedes hertil, var Seriesnit fra et vilkaarligt valgt Sted i den røde Knoglemarv.

Jeg foretog en Titælling for at danne mig et Skøn over, hvor stor Middelfejlen ved den nævnte Fremgangsmaade var. Man vilde saaledes kunne se, hvorvidt det var muligt ved Undersøgelse af et meget begrænset Knoglemarvsparti at drage Slutninger om hele Knoglemarvens Megakaryocytholdighed.

Materialet til disse Titællinger var 1 cm. lange, røde Knoglemarvs»segmenter« fra Femur og Tibia paa højre og venstre Side.

Resultatet af hver af de ti Tællinger, jeg har udført efter »Seriemetoden«, er anført nedenfor. Jeg har angivet Megakaryocyternes Antal pr. 100 Synsfelter. ɔ: Gennemsnittet af de 5 × 100 Synsfeltundersøgelser. Tallene i Parentes er Segmenterne Nummer regnet proximalt-distalt i højre og venstre Femur og Tibia.

(h. F.)			(h. T.)		(v. F.)		
(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(1)	(2)	(3)
173,6 -	192,4 -	173,0 -	128,6 -	163,0 -	117,8 -	122,6 -	110,2 -

(v. T.)	
(1)	(2)
118,8 -	115,4

Middeltal: 141,5; Middelfejl 21,5 %.

Jeg talte tillige Megakaryocyterne i det mest distale, gule Tibiasegment paa hver Side og fik herved Oplysning om disse Cellers Antal i Underextremitetens gule Marv.

Resultatet af samtlige ovennævnte Tællinger blev følgende:

Der findes en meget stor Forskel paa Megakaryocytholdigheden i rød og gul Knoglemarv, idet der gennemgaaende er 4—5 Gange saa mange Kæmpeceller i den første som i den sidste Vævsart. Jeg bestemte mig til kun at benytte den røde Knoglemarv til mine senere Tællinger af Megakaryocyter.

Af disse, saavelsom af senere foretagne Tællinger (Kanin 2 og 3) fremgaar det, at der proximalt og distalt indenfor den røde Knoglemarv kun gør sig forholdsvis smaa Forskelle gældende i Megakaryocyttallet.

Paa højre og venstre Side findes en Forskel paa den totale Megakaryocytholdighed som 3:2.

»Seriemetoden« synes ikke at besidde nogen Fordel fremfor den af *Fabricius-Møller* benyttede Fremgangsmaade.

2 a. Tælling efter »1-Stykmetoden« blev dernæst forsøgt.

Snitpræparaterne stammede denne Gang fra 5 forskellige Lokalisationer indenfor eet vilkaarligt valgt, 1 cm. langt Knoglemarvsstykke. Den indbyrdes Afstand mellem Snittene var ca. 2 mm. Ligesom ved Seriemetoden talte jeg 5 × 100 Synsfelter.

For ogsaa at kunne skønne over denne Metodes Anvendelighed har jeg foretaget en Titælling fra de samme 10 »Segmenter«, som tjente til Prøve for »Seriemetoden«. Den Orden, hvori Tællingerne er blevet foretaget, har været den samme som i 1.

(h. F.)			(h. T.)		(v. F.)		
(1)	(2)	(3)	(1)	(2)	(1)	(2)	(3)
199,0 -	148,4 -	160,0 -	116,8 -	137,8 -	118,6 -	137,2 -	91,4 -
			(v. T.)				
			(1)	(2)			
			105,8 -	113,6			

Middeltal: 132,9; Middelfejl 23,2 %.

Dette Resultat ligner det ved »Seriemetoden« opnaaede.

Som det ses, har jeg baade ved »Seriemetoden« og »1-Stykmetoden« undersøgt 10 Gange saa mange Synsfelter, som *Fabricius-Møller*, og fordelt disse over 5 Snit, medens han kun benyttede 2. Afstanden mellem Snittene i Knoglemarven har ved *Fabricius-Møllers* Fremgangsmaade været omtrent som ved min. Begge de ovennævnte af mig benyttede Metoder, er omstændelige og anstrængende, og har givet en høj Middelfejl.

Ved en yderligere »Spredning« af de 500 Synsfelter indenfor Knoglemarven haabede jeg at kunne bringe Fejlprocenten ned. Dette kunde tænkes at ske enten ved at øge Afstanden mellem de 5 Snit betydeligt, eller ved at undersøge færre Synsfelter indenfor et større Antal Snit.

2 b. Jeg prøvede først en »5-Stykmetode α«.

Ligesom de foregaaende Gange talte jeg Megakaryocyterne i 100 Synsfelter fra 5 forskellige Snitpræparater. Medens disse ved de to ovenfor omtalte Maader stammede fra eet »Segment«, fordelte jeg nu Præparaterne over hele den ene Underextremitets røde Knoglemarv. Afstanden mellem hvert Snit blev herved ca. 1 cm.

Til Bestemmelse af Fejlomraadet anvendte jeg samtlige ved »Serie«- og »1-Stykmetoden« fundne Megakaryocyttal.

Hvert af de 10 Tal, hvorpaa jeg tidligere havde baseret Middelfejlbestemmelserne, var som nævnt Gennemsnitstal af 5 × 100 Synsfeltundersøgelser. Jeg havde m. a. Ord 5 Talgrupper til Disposition, fra hver Underextremitets 5 Knoglemarvs»segmenter«.

Adderede jeg nu henholdsvis det første — fem Tal i hver af disse Grupper og bestemte det hertil svarende Middeltal (pr. 100 Synsfelter), fremkom Værdier, der kunde gøre det ud for Megakaryocyttællinger efter »5-Stykmetode α«.

Med Benyttelse af »Seriemetoden«s Talgrupper fik jeg:

h. v.

183,0—159,0 — 156,0—164,8 — 167,2—110,2 — 116,8—115,0 — 127,4—115,4

Middeltal: 141,5; Middelfejl: 18,4 %.

Med Benyttelse af »1-Stykmetoden«s Talgrupper fik jeg:

h. v.

143,4—157,0 — 159,8—150,0 — 151,8—107,0 — 116,8—123,0 110,0—109,8

Middeltal: 132,9; Middelfejl: 15,3 %.

Det har hermed vist sig, at end ikke en større »Spredning« af Snitpræparaterne og dermed af de 5 × 100 Synsfelter indenfor Knoglemarven har givet væsentlige Forbedringer.

Af praktiske Grunde ønskede jeg ikke at basere hver Megakaryocytbestemmelse paa mere end 500 Synsfelter. Der vilde derfor nu kun være Mulighed for Opnaaelse af bedre Resultater ved at øge Snittenes Antal, gøre Præparaternes indbyrdes Afstand i Knoglemarvcylindren saa stor som mulig og samtidig undersøge et mindre Antal Synsfelter fra hvert Snit.

2 c. Jeg prøvede derfor »5-Stykmetoden β«.

Efter denne undersøgte jeg i 10 forskellige Præparater 50 Synsfelter i hvert. Snittene var ligeligt fordelt over hele den ene Underextremitets Knoglemarv.

Det ved »Seriemetoden« og »1-Stykmetoden« fremskaffede Talmateriale lod sig atter anvende til at give Oplysninger om, hvorvidt denne Ændring i Fremgangsmaaden medførte en Formindskelse af Fejlprocenten.

Ved Titælling efter »5-Stykmetoden α« havde jeg sammenstillet henholdsvis det første — femte Tal indenfor hver af de 5 Talgrupper paa saavel højre som venstre Side. Af hvert enkelt af disse Tal, der svarede til 100 Synsfeltundersøgelser, dannede jeg 2 nye Tal, saaledes at disse kom til at repræsentere Megakaryocyternes Antal i 50 Synsfelter. Herved fik jeg af de oprindelige Talgrupper (à 5 Tal) dannet nye Grupper (à 10). Naar jeg, paa Grundlag af mine tidligere Tællinger, saa mig i Stand til at fremskaffe de nøjagtige Megakaryocyttal pr. 50 Synsfelter, skyldes det, at jeg i mine Kladder altid havde noteret Megakaryocyternes Fordeling indenfor de 100 Synsfelter.

Ved at sammenlægge det henholdsvis første—tiende Tal indenfor de 5 Grupper paa hver Side, fremskaffede jeg Tal, svarende til 2 Titællinger, udført efter »5-Stykmetoden β«.

»Seriemetoden«s Tal gav:

153,8—139,4 — 135,6—142,0 — 135,0—136,6 — 140,0—152,2 — 143,0—139,6

Middeltal: 141,7; Middelfejl: 4,5 %.

»1-Stykmetoden«s Tal gav:

120,6—129,8 — 128,6—145,2 — 139,0—143,8 — 132,8—127,2 — 123,0—138,6

Middeltal: 132,9; Middelfejl: 6,4 %.

Ved paa denne Maade indenfor Knoglemarven at have forenet Snitpræparat- og Synsfelt-Spredning, gav en meget iøjnefaldende Forbedring sig tilkende med Hensyn til Tællemetodens Nøjagtighed. Jeg bestemte mig som Følge heraf til for Fremtiden at benytte »5-Stykmetoden β« til Tælling af Megakaryocyter.

Til Slut skal jeg sammenstille de gennemsnitlige Megakaryocyttal pr. 100 Synsfelter, beregnet efter de 4 forskellige Fremgangsmaader:

1. „Seriemetoden“	h. 166,1; v. 117,0;	3. „5-Stykmet. α“ (1) = „Seriemet. “(2) = „1-Stykmet.“
2. „1-Stykmetoden“	h. 152,4; v. 113,3;	4. „5-Stykmetoden β“ (1) 141,7; (2) 132,9

Inden Metoden til Megakaryocyttælling kunde anses for fuldt anvendelig, undersøgte jeg yderligere 2 Kaniner for derigennem at skaffe mig visse Oplysninger. Foruden at bestemme de absolutte Megakaryocyttal hos en anden Kanin, ønskede jeg at fastslaa, om den Forskel, der havde vist sig i Megakaryocytholdigheden paa højre og venstre Side, var et konstant Fænomen baade med Hensyn til Grad og Lokalisation. Paa Forhaand maatte det imidlertid forekomme én lidet sandsynligt, at der i den ene Legemshalvdel skulde findes flere Megakaryocyter end i den anden.

Kanin 2.

Sortegraa, plettet, ♂, Vægt 695 gram, Sahli 67.

Blodpladetallet (bestemt efter den modificerede Thomsen-Mikrometode: 524.400 pr. mm³ Citratplasma. Højre Femurs Længde 6,4 cm.

Ved Tælling af Megakaryocyter (efter »5-Stykmetoden β« (10 × 50 Synsfelter) fandt jeg i h. Femur:

33 — 43 — 37 — 31 — 45 — 38 — 38 — 36 — 27 — 29;

Middeltal (pr. 100 Synsfelter) (35,7 × 2 =): 71,4.

I venstre Femur:

60 — 53 — 48 — 40 — 48 — 51 — 45 — 58 — 54 — 47;

Middeltal (pr. 100 Synsfelter): 100,8.

Som Resultat af de ovenanførte Undersøgelser fremgik følgende:

Hos Kaniner af samme Alder og Vægt kan det absolutte Megakaryocyttal vise Variationer op imod 100 %.

Der findes Forskel i Megakaryocytholdigheden paa højre og venstre Side. Forholdet mellem de to Sider var:

hos 1. Kanin: (h) 3 — (v) 2; hos 2. Kanin: (h) 2 — (v) 3.

Der synes med andre Ord at være en konstant Forskel mellem Megakaryocyttallene paa de to Sider, omend Lokalisationen er vekslende.

Megakaryocyttallet er temmelig ensartet proximalt saavelsom distalt i rød Knoglemarv (Femur) hos Kaniner.

Som Afslutning paa de tidligere omtalte Undersøgelser ønskede jeg at sætte Megakaryocyttællemetoden paa en endelig Prøve.

Det var herigennem min Hensigt at kontrollere, om Middelfejlen stadig holdt sig saa lav, som det var fremgaaet af de ovenanførte Tællingsforsøg.

Jeg skal nedenfor anføre Resultatet af en Titælling, udført paa Knoglemarv fra h. Femur.

Kanin 3.

(Dyret var af samme Alder, som de to foregaaende), sortegraa, ♀, Vægt 610 gram, Sahli: 68.

Blodpladetælling: den modificerede Thomsen-Mikrometode: (521.800 pr. mm³ Citratplasma). Højre Femurs maximale Længde: 6,2 cm.

Idet Epifyserne (à ca. 1 cm.) let lod sig knække af, delte jeg den ca. 4 cm. Diafyse i 1 cm³ Stykker. De 10 Snit blev fordelt det mest mulige indenfor de 4 Knoglemarvssegmenter.

115,0 — 118,4 — 113,6 — 127,8 — 129,4 — 131,6 — 135,8 — 134,2 — 128,2 — 112,8;

Middeltallet (pr. 100 Synsfelter): 124,7; Middelfejl: 7,11 %.

Omend Tællemetoden oprindelig er blevet udformet til at gælde for Femurs Marv, har jeg ogsaa i stor Udstrækning foretaget Megakaryocyttælling i Marven fra spongiøse Knogler hos Kaniner.

Ved mine tidligste Undersøgelser benyttede jeg hertil som Materiale 3. og 4. Lumbalhvirvel. Det spongiøse Væv er her relativt rigeligere tilstede end i nogen anden Knogle i Truncus.

Decalcinering blev foretaget samtidig efter de 3 af *Jolly* anbefalede Maader. Meget smaa Knoglestykker, hvor jeg saavidt mulig havde fjernet alt kompakt Væv, blev afkalket i 2 % Salpetersyreopløsning (i Alkohol), i 2 ‰ Chromsyreopløsning eller i 10 % Salpetersyre i mættet, vandig Pikrinsyreopløsning. Afvanding lod jeg vare en Ugestid og indskød en Dags Behandling med mættet Lithioncarbonatopløsning.

Af de nævnte Opløsninger gav Chromsyren ubetinget de bedste Resultater. Decalcineringen lagde her Beslag paa lidt kortere Tid end ved de to andre, og Granulafarvningen traadte tydeligt frem for alle Cellers Vedkommende.

Af forskellige Grunde forlod jeg dog snart den ovenomtalte Fremgangsmaade. Det var saaledes en meget stor Ulempe, at Afkalkning ofte lagde Beslag paa flere Maaneder. Saasnart jeg søgte denne Tid afkortet ved at øge Syrekoncentrationerne, led Præparaternes Farvelighed meget. Ved Tælling af Megakaryocyter i Vævet i de spongiøse Hulrum, lod det sig endvidere vanskeligt helt undgaa, at Knoglevæv kom med i Synsfelterne. Dette bevirkede, at Megakaryocyternes Antal ved den endelige Opgørelse syntes mindre, end de i Virkeligheden var. Det decalcinerede Væv lod sig fremdeles sjældent skære saa tyndt, som det var ønskeligt.

Det var ydermere en Ulempe, at de faa og smaa Vævsstykker satte en Grænse for »Spredningen« af Snittene. Derved nødsagedes jeg til at foretage Tællingerne efter »1-Stykmetoden«, et Forhold, der stadig maatte erindres ved eventuel Sammenligning med de i Femurmarven fundne Tal.

Endelig var jeg blevet opmærksom paa, at visse anatomiske Forhold ved Knoglemarvens Fordeling indenfor Hvirvellegemerne, gjorde sig gældende paa en saadan Maade, at jeg kunde drage Nytte deraf.

I hvert Corpus vertebræ er øverst og nederst spongiøst Væv. I Midten og bagtil findes derimod et godt risengrynstort, uregelmæssigt begrænset Parti, hvor Marven er fuldstændig fri for Knogle-

bjælker. Dette Vævsparti lader sig skrælle ud med en lille Skarpske. Set fra Spinalkanalen dækker Ligamentum longitudinale posterius Knoglemarven som en fibrøs Hinde; denne maa først løsnes fra de ossøse Tilhæftninger.

Jeg gik derfor over til at benytte en anden Fremgangsmaade til Fremskaffelse af Knoglemarv fra Hvirvlerne.

Fra samtlige Hvirvler i Thoracal- og Lumbaldelen udtog jeg de ovenfor omtalte smaa Vævspartier.

Disse samledes til eet, ærtstort Stykke, der blev fixeret og viderebehandlet som Rørknoglernes Marv.

Denne Fremgangsmaade rummede følgende Fordele: Marv fra spongiøse Knogler krævede ikke mere den lange Tids specielle Præparation. Vævsundersøgelserne kunde nu foretages under eet fra Femur og Hvirvlerne og allerede faa Dage efter, at Dyret var blevet dræbt. Behandlingen af Vævet ligesom Snittykkelsen blev ens for Knoglemarv fra begge Lokalisationer. Idet Knoglemarven stammede fra mange Hvirvler, kunde man regne med, at Megakaryocytbestemmelsen foregik i Overensstemmelse med »5-Stykmetoden β«' Princip. Sammenligning mellen Megakaryocyttallene blev herved baade lettere og mere korrekt.

Fremgangsmaaden ved Tælling af Megakaryocyter i Snitpræparater.

Tidligere har jeg haft Lejlighed til at komme ind paa Tekniken ved Undersøgelse af Knoglemarv. Her skal kun nævnes, hvad der maa anses for at have speciel Interesse for Megakaryocyttællingen.

Jeg har valgt altid at tælle Megakaryocyterne i h. Femurs Marv. Efter at Knoglen er udtaget, renset for Bløddele og blevet maalt, befris den for Hovedmængden af spongiøs Substans. Ved at fjerne Epifyserne undgaar man Ulemper ved saavel Udtagelsen af Marvcylindren som ved den videre Præparation.

Hos voksne Kaniner, hvor Epifyselinien er lukket, fjernes ved Gennemsavning 2,5 cm. proximalt og 2 cm. distalt af de som Regel 9—11 cm. lange Femora. Hos unge Dyr har derimod Epifysen altid ladet sig løsne i Epifyselinien.

Diafysen er derpaa ved transversel Gennemsavning blevet delt i 1 cm. lange Stykker. Disse korte Knoglecylindrer spaltede jeg forsigtigt og overskar aa. nutritiæ' Forgreninger, der hos Kaniner er det eneste, der binder Vævet stærkt til Indersiden af Diafysen. Knoglemarvscylindrerne blev udtaget in toto f. Ex. med en Hagedorns Naal. Fixation og Viderebehandling foregik som tidligere beskrevet. De cylindriske Marvstykker blev efter Paraffinindstøbningen stillet paa Træklods med den proximale Ende opad.

Der blev til hver Undersøgelse skaaret det dobbelte Antal Snit af, hvad der var paakrævet. Paa denne Maade havde jeg nogle i Reserve fra de Lokalisationer, hvorfra jeg senere ikke vilde have Mulighed for at kunne skære nye.

Tællingerne blev altid udført i rene Tværsnit efter det samme Princip, som *Ellermann* har benyttet til Tælling af Leukocyter i Tørpræparater. Med Krydsbord gennemsøgte jeg de cirkulære Præparater i paa hinanden vinkelrette Diametre og Korder, indtil det ønskede Antal Synsfelter var undersøgt.

Herved undgik jeg at faa snart for høje, snart for lave Tal som Følge af Megakaryocyternes vekslende Lejring. Saadanne Fejl vilde let have kunnet indløbe, dersom man var begyndt ved den ene Side af Præparatet og gaaet frem kun i een Retning.

Til Grund for den talmæssige Opgørelse er blevet lagt de Cellelegemer, der indeholdt Kærne eller større eller mindre Segmenter deraf.

Mine Tællinger ved Forsøgene er blevet udført som Differentialtællinger. Megakaryocyttallene er, forudsat at andet ikke er nævnt, angivet pr. 100 Synsfelt ɔ: Gennemsnitstallet af 500 Synsfeltundersøgelser.

Det er mig klart, at visse mindre Fejl har kunnet indløbe ved Differentialtællingerne. I Enkeltsnit vil man saaledes ikke altid kunne udelukke: at ugranulerede Celler i Virkeligheden er partielt granulerede, at Celler med ensartet, ret mørk Kærne er Segmenter af kransformede, og at granulerede, tilsyneladende regelmæssigt formede Megakaryocyter i Nabosnittene vilde røbe sig som Wrightske Figurer.

Disse Forhold vil imidlertid som Regel kun faa underordnet Betydning. Ved Bedømmelsen af Cellernes Art har man som oftest flere Holdepunkter, og Tvivlstilfældene er faatallige. Det totale Megakaryocyttal forandres i hvert Fald ikke af de smaa Forskydninger i Differentialtallene, der vil kunne tænkes at finde Sted.

ARTEN OG FORDELINGEN AF MARVEN I DE FORSKELLIGE KNOGLER HOS KANINER.

Som et nødvendigt Led i Forsøgene paa hos Kaniner at afgrænse den normale Tilstand fra de experimentelt fremkaldte Forandringer, skal jeg her omtale visse Forhold vedrørende Knoglemarven specielt hos denne Dyreart.

Ved saavel den makroskopiske som den mikroskopiske Bedømmelse af Knoglemarvens Udseende efter Experimenter er det af Betydning at vide, hvorledes det indbyrdes Mængdeforhold normalt er mellem rød og gul Marv i Rør- saavelsom i spongiøse Knogler.

Det er almen kendt, at der i Organismens Knogler, saaledes som det første Gang er blevet anført af *Virchow*, dels findes rød, dels gul Marv.

I Menneskets første Leveaar forekommer rød cellerig Marv i samtlige Knogler; efter 6.—7. Aar begynder denne at antage en lysere Farve. Den fra de distale Epifyser udgaaende Remplacering af den virksomme, cellerige Knoglemarv er næsten tilendebragt allerede ved det 15. Aar *(Neumann)*.

I Almindelighed er man enige om, at der hos voksne findes rød Marv i Truncus (Vertebræ, Costæ og Sternum) samt Kraniets Knogler. Phalanges, Metacarpal- og Metatarsalknogler, Antibrachium og Crus samt i det mindste den distale Halvdel af Femur og Humerus indeholder hos voksne altid Fedtmarv *(Jolly, Helly)*. Denne Lovmæssighed, der gør sig gældende i Knoglemarvens Fordeling, er blevet paavist af *Neumann*.

Hos de almindelige Forsøgsdyr gør visse mindre Forskelligheder sig gældende. Her skal blot anføres et Par Forhold, som jeg mener, det er af Betydning at kende.

Hos Marsvin er Knoglemarven i Diafysen som Regel ensartet rød, indeholdende meget faa Fedtceller; den synes at være uforandret hele Livet igennem.

Kaninens lange Rørknogler indeholder cellerig Marv. Fedtholdigheden, der her er større end hos den ovenfor mævnte Dyreart, varierer med Alderen og kan vise individuelle Forskelligheder.

Naar man hos Mennesker og Dyr ønsker at danne sig et Begreb om Knoglemarvens Beskaffenhed i hele Organismen, undersøges som Regel de lange Rørknogler (hos Mennesket altid prox. Del af Femur).

Grunden hertil er, at Knoglemarven paa dette Sted findes i rigelig Mængde, at Marvhulen er let tilgængelig, og at man vil kunne undgaa at faa Tilblanding af spongiøst Væv medsamt de Ulemper, en eventuel Decalcinering vilde medføre.

Da jeg til mine Knoglemarvsundersøgelser altid har benyttet h. Femur (fra Kaniner), er det nødvendigt at gøre sig klart, hvor store de normale Svingninger i Celleholdigheden vil kunne være paa dette Sted.

For at skaffe mig Oplysning herom, har jeg fra forskellige Lokalisationer dels bestemt Megakaryocyttallet for derigennem at faa et vist Udtryk for Celleholdigheden, dels dannet mig et Skøn over, hvor stor en Del (angivet som Brøkdel) af hvert Synsfelt, Fedtceller repræsenterede.

Ved at undersøge Marven i de forskellige Knogler, blev jeg opmærksom paa et Forhold, der ikke tidligere synes at være blevet fremhævet.

Medens Femora altid indeholder rød Marv overalt, fandt jeg en tydelig Forskel paa Marven fra proximale og distale Del af Tibia. Sidstnævnte Sted var den gul, derimod proximalt rød som i Femur. Mine Tællingsforsøg og senere Kontrolundersøgelser har vist, at der, svarende til den makroskopisk synlige Forskel, ved Mikroskopi næsten udelukkende fandtes Fedtvæv distalt i Tibia. Den røde og gule Knoglemarv i Tibia grænser skarpt op til hinanden. Overgangslinien er skraat forløbende, ½ cm. lang ved Projektion paa Knoglen og beliggende omtrent ved Midten af Tibia.

Hos Mennesker svinder ved visse Sygdomme ikke alene de Fedtceller, der hos voksne altid findes i rød Knoglemarv, men det

cellerige Væv remplacerer Fedtmarven ved større eller mindre Propagation i distal Retning.

Det var af Interesse at se, om den stærke Cellehyperplasi, man ved visse Experimenter kunde fremkalde i den røde Knoglemarv, ogsaa gjorde sig gældende i den gule Tibiamarv. Var dette Tilfældet, maatte det formodes, at Overgangslinien rykkede distalt og dens Beliggenhed til en vis Grad kunde give et Maal for Celleforøgelsen.

For med saadan Bedømmelse for Øje at skaffe et passende Grundlag tilveje har jeg hos normale Kaniner maalt Overgangsliniens Beliggenhed i Forhold til Knoglens maximale Længde, regnet fra den distale Ende af Tibia. Som en Slags Kontrol maalte jeg tillige altid Femurs maximale Længde.

Paa Forhaand er man altid gaaet ud fra, at den røde Knoglemarvs Beskaffenhed var ens overalt i Organismen.

Det er imidlertid et Spørgsmaal, hvor berettiget man er til at tage den fra Femur stammende Vævsprøve som Indikator for hele det røde Knoglemarvssystems Tilstand.

For ogsaa af søge dette Forhold klarlagt har jeg paa en Række Dyr samtidig bestemt Megakaryocyternes Antal i Knoglemarv fra Femora og Corpora vertebrarum.

DEN DAGLIGE BLODPRØVETAGNINGS INDFLYDELSE.

Kanin (Bæver-), ♂, Vægt 2930 gram.

Forsøgsd.	Dato	Sahli.	Erythrocyter	Blodplader.	Extra Blodtab
1	17/1 24	87	5.690.000	766.500	ca. 5 Draaber
2	18/1 24	88	5.530.000	721.500	- 3 —
3	19/1 24	90	6.555.000	781.000	- 2 —
4	20/1 24	93	5.835.000	739.500	- 5 —
5	21/1 24	88	5.865.000	734.000	- 4 —
6	22/1 24	86	5.145.000	744.000	- 4 —
7	23/1 24	87	5.900.000	745.000	- 3 —
8	24/1 24	84	5.645.000	732.500	½ cm³
9	25/1 24	86	5.835.000	751.500	- 5 Draaber
10	26/1 24	84	5.550.000	738.000	- 2 —
11	27/1 24	90	7.325.000	776.000	- 5 —
12	28/1 24	82	4.745.000	723.500	- 2 —

Til hver Blodundersøgelse medgaar 2 × ½ cm³ Blod vundet ved Snit i Ørerandvene.

Blodpladetælling: Centrifugeringsmetode.

28/1 24. Dyret dræbes; umiddelbart derefter Sektion:

Organerne naturlige. Milt: Vægt 2 gram.

H. Femurs max. Lgd. 9,5 cm., h. Tibias max. Lgd. 10,5 cm.

Overgangslinien 4,4 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Organerne naturlige.

Knoglemarven: Fedtmængden normal ($^{3}/_{5}$).

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 331—0—44—18—8W—32F—3D = 436: $\frac{436}{5}$ = 87,2; 87.

Resumé:

Med Anvendelse af de Blodundersøgelsesmetoder, jeg agtede at benytte ved mine Experimenter, har jeg i 12 Dage daglig undersøgt Erythrocyternes og Blodpladernes Antal hos en normal Kanin. Blodpladetallet holdt sig konstant; Erythrocyterne viste derimod mindre Svingninger. 3. og 10. Dag saas saaledes en Stigning; den sidstnævnte blev efterfulgt af et Fald.

Det fremgaar heraf, at daglig Blodundersøgelse i en halv Snes Dage ikke medfører saadanne Ændringer i Blodlegemernes Antal, at disse vil kunne virke forstyrrende paa Forsøgsresultaterne.

UNDERSØGELSE AF NORMALE KANINER.

For at fremskaffe et Talmateriale fra normale Kaniner, med hvilket de senere indvundne Forsøgsresultater kunde sammenlignes, har jeg undersøgt 12 Kontroldyr. Fremgangsmaaderne har her, ligesom senere, været de ovenfor beskrevne.

Jeg ønskede tillige at se, hvor stor Forskel der var paa de absolutte Blodpladetal, naar de stammede fra Prøver, der var vundet ved Hudsnit og ved Hjertepunktur (med paraffineret Kanyle). Jeg har derfor, hvor det var muligt, samtidig taget 1 $cm^3 \times 2$ fra Ørerandkar og fra højre Hjertehalvdel. Fandtes en Forskel i Blodpladetallene, vilde denne enten kunne bero paa, at visse Blodplader i Udtømmelsesøjeblikket var faldet sporløst hen som Følge af Vævsvæsketilblanding, eller hidrøre fra Forskelligheder i Blodpladernes Fordeling i Kredsløbet.

Angaaende den i dette og de senere Afsnit benyttede Nomenklatur skal jeg meddele følgende:

1) = Blodvinding gennem Prik i Ørerandvene;
2) = Blodvinding gennem Punktur af højre Hjertehalvdel med paraffineret Kanyle (indført umiddelbart efter, at Dyret er bedøvet ved kraftigt Nakkeslag). Mangler Tallet i denne Rubrik, skyldes det, at Dyrets Hjertekontraktioner var ophørt, inden jeg havde faaet Thorax aabnet.

Femur = Femurs maximale Længde,
Tibia = Tibias maximale Længde,
Overgangslinie = Overgangslinien mellem rød og gul Marv i Tibia, udmaalt fra Tibias distale Ende.
F = h. Femur; C. v. = Corpora vertebrarum.

Megakaryocytdifferentialtallene er nævnt i Rækkefølgen:

1. granulerede Megakaryocyter med lys, kransformet Kærne,
2. — — — mørk, ensartet Kærne,
3. ugranulerede Megakaryocyter med lys, kransformet Kærne,
4. — — — mørk, ensartet Kærne.

W = Wrights Figur; F = »fagocyterende« Megakaryocyt; D = »multipolær Mitose«; K = Megakaryocyt indeholdende Kromatinkugler.

Med Hensyn til Angivelsen af Megakaryocyternes Mængde sml. p. 158. Fedtholdigheden bestemmes rent skønsmæssigt i Knoglemarvstværsnittene og angives som den Brøkdel af Synsfeltet, som Fedtcellerne udgør.

Undersøgelse af Organerne er altid foretaget paa Væv fra: Lunge, Lever, Milt, Nyre og Lymfeglandler (fra Poples) fixeret og viderebehandlet efter den tidligere angivne Metode. Findes intet angivet, har jeg fundet normale Forhold.

Nr. 1.

	♀	
	Vægt	1610 gram
Blodundersøgelse	Sahli	72
	Erythrocyter	4.945.000
	Blodplader 1)	642.500
	2)	†
Sektion	Milt	1,2 gram
	H. Femur	8,6 cm., Tibia 9,3 cm., Overgangslinie 3,8 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:
	F: 459—0—72—48—5W—4F = 588; $\frac{588}{5}$ = 117,6; 118.	
	C. v: 342—5—71—38—22W—7F—2D = 487; $\frac{478}{5}$ = 97,4; 97.	
		Fedtmgd. F = C. v. = ¼—⅓
		Blodpl. + i Femur
	Organer	nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader.

Nr. 2.

	♀	
	Vægt	1715 gram
Blodundersøgelse	Sahli	78
	Erythrocyter	5.015.000
	Blodplader 1)	598.000
	2)	578.500
Sektion	Milt	1,0 gram
	H. Femur	8,7 cm., Tibia 9,5 cm., Overgangslinie 3,8 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:
	F: 445—0—79—30—10W—3F—2D—1K = 570; $\frac{570}{5}$ = 114,0; 114	
	C. v: 344—0—41—23—14W—2F—1D = 425; $\frac{425}{5}$ = 85,0; 85	
		Fedtmgd. F ⅕—¼ C. v. ⅖—½
		Blodplader ÷
	Organer	nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 3.

	♀	
	Vægt	1810 gram

Blodundersøgelse	Sahli	76
	Erythrocyter	5.625.000
	Blodplader 1)	689.500
	2)	†
Sektion	Milt	0,7 gram
	H. Femur	8,7 cm., Tibia 9,6 cm., Overgangslinie 4,0 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:

F: 484—4—67—55—21W—8F—3D = 642; $\frac{642}{5}$ = 128,4;
128

C. v.: 425—2—59—30—20W—2D—1K = 539; $\frac{539}{5}$ = 107,8;
108

Fedtmgd. F = C. v. = $^1/_5$—$^1/_4$—$^1/_3$.
Blodplader ÷

	Organer	nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 4.

	♂	
	Vægt	2000 gram
Blodundersøgelse	Sahli	78
	Erythrocyter	5.710.000
	Blodplader 1)	619.000
	2)	601.500
Sektion	Milt	1,22 gram
	H. Femur	9,5 cm., Tibia 10,5 cm., Overgangslinie 4,3 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:

F: 430—0—56—35—1W—2F—2D—2K = 528; $\frac{528}{5}$ = 105,6;
106

C. v.: 377—1—39—20—2F—4D—1K = 444; $\frac{444}{5}$ = 88,8; 89

Fedtmgd. F = C. v. = $^1/_6$—$^1/_5$
Blodplader ÷

	Organer	nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 5.

	♀	
	Vægt	2060 gram
Blodundersøgelse	Sahli	÷
	Erythrocyter	÷
	Blodplader 1)	569.500
	2)	÷
Sektion	Milt	2,3 gram
	H. Femur	9,0 cm., Tibia 10,0 cm., Overgangslinie 4,3 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter;

F: 171—6—49—17—13W—23F—1D = 280; $\frac{280}{5}$ = 56,0; 56
C. v.: ÷
Fedtmgd. F = $^1/_5$—¼
Blodplader ÷
Organer nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 6.

♂
Vægt 2060 gram
Blodundersøgelse Sahli 76
Erythrocyter 5.310.000
Blodplader 1) 413.500
2) †
Sektion Milt 2,1 gram
H. Femur 9,1 cm., Tibia 9,8 cm., Overgangslinie 3,8 cm.
Hist. Unders. Knoglemarv Megakaryocyter:
F: 438—1—75—30—8W—3D = 555; $\frac{555}{5}$ = 111,0; 111
C. v.: 297—7—74—32—7W—5D = 422; $\frac{422}{5}$ = 84,4; 84
Fedtmgd. F = $^1/_5$. C. v. = ¼
Blodplader ÷
Organer nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 7.

♂
Vægt 2200 gram
Blodundersøgelse Sahli 78
Erythrocyter 5.960.000
Blodplader 1) 556,500
2) 528.500
Sektion Milt 1,2 gram
H. Femur 9,2 cm., Tibia 10,2 cm., Overgangslinie 3,5 cm.
Hist. Unders. Knoglemarv Megakaryocyter:
F: 334—1—35—12—15W—1F—1D = 399; $\frac{399}{5}$ = 79,8; 80
C. v.: 325—1—44—20—170—3F—2D = 396; $\frac{396}{5}$ = 79,2; 79
Fedtmgd. F. = C. v. = $^1/_5$
Blodplader ÷
Organer nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 8.

♀
Vægt 2330 gram
Blodundersøgelse Sahli 66
Erythrocyter 4.680.000

	Blodplader 1) 786.000	
	2) 737.500	
Sektion	Milt	1,3 gram
	H. Femur	9,0 cm., Tibia 10,0 cm., Overgangslinie 4,5 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:

F: 427—0—112—1(—19W—9F—3D = 587; $\frac{587}{5}$ = 117,4; 117

C. v.: 461—0—82—14—12W—2F—1D = 572; $\frac{572}{5}$ = 114,4; 114

Fedtmgd. F = C. v. = $^1/_5$—¼
Blodplader ÷
Organer nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 9.

♂

	Vægt	2440 gram
Blodundersøgelse	Sahli	78
	Erythrocyter	4.555.000
	Blodplader 1) 843.000	
	2) 815.000	
Sektion	Milt	1,2 gram
	H. Femur	9,3 cm., Tibia 10,0 cm., Overgangslinie 5,0 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:

F: 289—5—73—24—5W—8F—4D = 408; $\frac{408}{5}$ = 81,6; 82

C. v.: 323—1—74—21—13W—1F = 433; $\frac{433}{5}$ = 86,6; 87

Fedtmgd. F = C. v. = $^1/_5$—¼
Blodplader ÷
Organer nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 10.

♀

	Vægt	2470 gram
Blodundersøgelse	Sahli	74
	Erythrocyter	4.495.000
	Blodplader 1) 548.500	
	2) 548.500	
Sektion	Milt	2,6 gram
	H. Femur	9,0 cm., Tibia 10,0 cm., Overgangslinie 4,5 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:

F: 283—0—45—18—4W—6F—3D—1K = 360; $\frac{360}{5}$ = 72,0; 72

C. v.: 302—0—49—18—3W—2F—2D = 376; $\frac{376}{5}$ = 75,2; 75

		Fedtmgd. F = C. v. = $^1/_6$—$^1/_5$
		Blodplader ÷
	Organer	nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 11.

	♀	
	Vægt	2900 gram
Blodundersøgelse	Sahli	72
	Erythrocyter	5.065.000
	Blodplader 1)	688.500
	2)	†
Sektion	Milt	1,8 gram
	H. Femur	9,0 cm., Tibia 10,0 cm., Overgangslinie 4,3 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:

F: 259—1—10—10—7F—3D = 290; $\frac{290}{5}$ = 58,0; 58

C. v.: 263—0—26—11—3F—2D = 305: $\frac{305}{5}$ = 61,0; 61

		Fedtmgd. F = C. v. = $^1/_5$
		Blodplader ÷
	Organer	nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Nr. 12.

	♀	
	Vægt	3350 gram
Blodundersøgelse	Sahli	78
	Erythrocyter	4.640.000
	Blodplader 1)	823.000
	2)	:
Sektion	Milt	÷
	H. Femur	10,0 cm., Tibia 11,0 cm., Overgangslinie 4,5 cm.
Hist. Unders.	Knoglemarv	Megakaryocyter:

F: 209—6—72—32—8W—58F—3D = 388; $\frac{388}{5}$ = 77,6; 78

C. v.: 226—0—34—14—4W—74F—1D = 353; $\frac{353}{5}$ = 70,6; 71

		Fedtmgd. F = C. v. = $^1/_5$—¼
		Blodplader ÷
	Organer	nat., ÷ Megakaryocyter, ÷ Blodplader

Resumé:

1. Megakaryocyttællingerne har givet følgende Resultater:*)

Kanin'. Vægt (i gram)	Megak'. Antal		Forh. mell. gran. og ugran. Megak.		Antallet af W-Figurer	
	Femur	Corp. vert.	Femur	Corp. vertebr.	Femur	Corp. vert.
Fra 1500	118	97	91,8 : 24,0	69,4 : 21,8	1,0	4,4
	114	85	89,0 : 21,8	68,8 : 12,8	2,0	2,8

*) Tallene gælder pr. 100 Synsfelter.

Kanin'. Vægt (i gram)	Megak. Antal		Forh. mell. gran. og ugran. Megak.		Antallet af W-Figurer	
	Femur	Corp. vert.	Femur	Corp. vertebr.	Femur	Corp. vert.
	128	108	97,6 : 24,4	85,4 : 17,8	4,2	4,0
Gennemsnit	*120,0*	*96,7*	*92,8 : 23,4*	*74,5 : 17,5*	*2,4*	*3,7*
Fra 2000	106	89	86,0 : 18,2	75,6 : 11,8	0,2	0
	56		35,4 : 13,2		2,6	
	111	84	87,8 : 21,0	60,8 : 21,2	1,6	1,4
	80	79	67,0 : 9,4	65,2 : 12,8	3,0	0,2
	117	114	85,4 : 25,8	92,2 : 19,2	3,8	2,4
	82	87	58,8 : 19,4	64,8 : 19,0	1,0	2,6
	72	75	56,6 : 12,6	60,4 : 13,4	0,8	0,6
	58	61	52,0 : 4,0	52,6 : 7,4	0	0
Gennemsnit	*85,3*	*84,1*	*66,1 : 15,5*	*67,4 : 14,9*	*1,6*	*1,0*
Fra 3000	78	71	43,0 : 20,8	45,2 : 9,6	1,6	0,8
Gennemsnit ialt:	*94,4*	*83,9*	*67,3 : 19,9*	*62,3 : 14,0*	*1,9*	*1,8*

2. Maalingerne af Femurs og Tibias maximale Længde samt Overgangsliniens Beliggenhed (regnet fra Tibias distale Ende) har givet følgende Resultater:

Kanin'. Vægt (i gram)	Femur	Tibia	Overgangslinie
Fra 1500	8,6	9,3	3,8
	8,7	9,5	3,8
	8,7	9,6	4,0
Gennemsnit	*8,7*	*9,5*	*3,9*
Fra 2000	9,5	10,5	4,3
	9,0	10,0	4,3
	9,1	9,8	3,8
	9,2	10,2	3,5
	9,0	10,0	4,5
	9,3	10,0	5,0
	9,0	10,0	4,5
	9,0	10,0	4,3
Gennemsnit	*9,1*	*10,1*	*4,3*
Fra 3000	10,0	11,0	4,5

Vægten af mine Forsøgsdyr har ikke ligget under 1500 gram. Jeg har derfor undladt at regne de Megakaryocytbestemmelser (efter »5-Stykmetoden β«) med, som jeg under Udarbejdelsen af Megakaryocyttællemetoden har foretaget paa 3 Kaninunger. Gennemsnitstallet (pr. 100 Synsfelter) i h. Femur var hos disse:

Kanin 1 (sml. p. 153) Vægt 695 gram: 141,7.

Kanin 2 (sml. p. 154) Vægt 695 gram: 71,4
Kanin 3 (sml. p. 155) Vægt 610 gram: 124,7.

Disse Tal er lidt afvigende fra de ovenfor angivne; dette skyldes muligvis Dyrenes forholdsvis ringe Alder. Der ses i visse Henseender Overensstemmelse med de hos voksne Kaniner fundne Værdier, idet Megakaryocyttallet normalt i h. Femur varierer ca. 100 % fra Dyr til Dyr indenfor samme Kuld.

Af de ovennævnte Undersøgelser fremgaar endvidere, at der ikke synes at være større Forskel paa Blodpladernes Antal centralt eller perifert i Organismen.

3. Da jeg ønskede at fremskaffe Gennemsnitsværdier for Hæmoglobinmængden, Erythrocyttallene samt Blodpladerne, der hvilede paa et større Antal Iagttagelser end dem, de 12 Kaniner muliggjorde, har jeg nedenfor sammenstillet Resultaterne af Undersøgelserne fra: 1) de ovenomtalte 12 Kaniner, 2) Førsteundersøgelserne af Forsøgsdyrene samt 3) Bestemmelser, foretagne paa enkelte andre normale Kaniner (Blodpladetitællingerne).

Vægt (i gram)	Undersøgte Kaniner		Sahli	Erythrocyter	Blodplader
♀ Fra 1500	norm. Kanin 1	(p. 164)	72	4.945.000	642.500
	norm. Kanin 2	(p. 164)	78	5.015.000	598.000
	Pyr. 4	(p. 217)	71	4.640 000	494.000
	norm. Kanin 3	(p. 164)	76	5 625.000	689 500
	Pepton 3	(p. 223)	70	4.405.000	561.000
	Blodpladetæl. 1	(p. 138)	63	3.805.000	646.000*)
	Pepton 2	(p. 222)	82	5.340.000	483.000
	Pepton 1	(p. 221)	80	5.600.000	563.500
Gennemsnit			*74,0*	*4.921.875*	*584 688*
Fra 2000	Pyrodin 6	(p. 218)	88	5.835.000	
	Pyrodin 3	(p. 216)	80	5.170.000	696.500
	norm. Kanin 5	(p. 165)			569.500
	Saponin 5	(p. 178)	83	4.180.000	720.000
	Saponin 6	(p. 179)	82	4.820.000	951.000
	norm. Kanin 8	(p. 166)	66	4.680.000	786.000
	norm. Kanin 10	(p. 167)	74	4.495.000	548.500
Gennemsnit			*78,8*	*4.863.333*	*711.917*
Fra 2500	Saponin 1	(p. 176)	80	4.600 000	

*) Middeltallet af de to første Tællinger i Titællingen.

Vægt (i gram)	Undersøgte Kaniner		Sahli	Erythrocyter	Blodplader
	Saponin 4	(p. 177)	63	4.405.000	
	Blodpladetæl.	(p. 134)	92	5.100.000	
	Geninj. af E + L	(p. 211)	72	5.185.000	738.500
	norm. Kanin 11	(p. 168)	72	5.065.000	688.500
	simp. Aar. 8	(p. 198)	96	4.425.000	780.000
	simp. Aar. 9	(p. 199)	75	4.925.000	747.500
	Gennemsnit		*78,6*	*4,815,000*	*738.625*
Fra 3000	norm. Kanin 12	(p. 168)	78	4.640.000	823.000
	Gennemsnit ialt:		*77,3*	*4.810.052*	*714.557*
♂ Fra 1500	Pyrodin 2	(p. 216)	87	5.310.000	461.500
	Pepton 4	(p. 223)	75	4.925.000	710.000
	Pyrodin 5	(p. 217)	75	4.740.000	509.000
	Pyrodin 1	(p. 215)	74	4.095.000	514.000
	Defibr. 8	(p. 206)	68	3.870.000	
	simp. Aar. 5	(p. 195)	80	5.175.000	1.036.500
	Gennemsnit		*76,5*	*4.685.833*	*646.200*
Fra 2000	norm. Kanin 4	(p. 165)	78	5.710.000	619.000
	Saponin 9	(p. 182)	78	5.520.000	468.000
	simp. Aar. 6	(p. 196)	83	5.170.000	953.800
	Blodpladetæl. 2	(p. 138)	83	5.170.000	977.000*)
	norm. Kanin 6	(p. 166)	76	5.310.000	413.500
	Saponin 10	(p. 183)	80	5.450.000	518.000
	norm. Kanin 7	(p. 166)	78	5.960.000	556.500
	Saponin 2	(p. 176)	76	5.910.000	
	simp. Aar. 4	(p. 194)	104	6.250.000	
	norm. Kanin 9	(p. 167)	78	4.555.000	843.000
	Gennemsnit		*81,4*	*5.500.500*	*668.600*
Fra 2500	Geninj. af E + L	(p. 210)	100	4.915.000	745.000
	Defibr. 9	(p. 207)	83	5.575.000	862.000
	simp. Aar 7	(p. 197)	96	4.950.000	1.131.000
	Saponin 7	(p. 180)	106	6.035.000	712.500
	dgl. Blodprtg.	(p. 162)	87	5.690.000	766.500
	Gennemsnit		*94,4*	*5.433.000*	*843.400*
Fra 300	simp. Aar. 2	(p 193)	83	5.455.000	
	Saponin 8	(p. 181)	73	4.980.000	702.500
	Saponin 3	(p. 177)	90	5.255.000	
	Gennemsnit		*82,0*	*5.230.000*	*702.500*
	Gennemsnit ialt:		*83,6*	*5.212.333*	*715,175*

*) sml. Fodnote p. 170.

Som samlet Resultat af mine Undersøgelser over normale Kaniner (af Vægten: ca. 1500—ca. 3500 gram) finder jeg følgende Gennemsnitsværdier:

Sahli	♀	77,3
	♂	83,6
Erythrocyter	♀	4.810.052
	♂	5.212.333
Blodplader	♀	714.557
	♂	715.175
Megakaryocyternes Antal*)	i Femur	94,4
	i Corp. vertebr.	83,9
Forholdet mellem gran. og ugran. Megak.*)	i Femur	67,3 / 19,9
	i Corp. vertebr.	62,3 / 14,0
Wrights Figurer*)	i Femur	1,9 (varierende fra 0—4,2)
	i Corp. vertebr.	1,8 (varierende fra 0—4,4)
„Fagocyter“*)	i Femur	2,2 (varierende fra 0—11,6)
	i Corp. vertebr.	1,7 (varierende fra 0—14,8)

EXPERIMENTERNE.

Med de nedenfor anførte Forsøgsanordninger har jeg tilsigtet at gennemprøve, hvorvidt det var muligt ad experimentel Vej at fremskaffe et Grundlag for den af saa mange formodede Samhørighed mellem Megakaryocyter og Blodplader.

I Modsætning til andre Undersøgere har jeg anvendt en Teknik, der baade for Blodpladers og Megakaryocyters Vedkommende maa anses for at arbejde med betydelig større Sikkerhed, end de tidligere benyttede.

Endvidere har jeg fremskaffet Talmateriale fra normale Kaniner til Sammenligning med de ved Forsøgene indvundne Resultater. Det er saaledes blevet mulig for mig med ret stor Sikkerhed at afgrænse normale Værdier fra pathologiske.

Til Forsøg over Relationsforholdet er blevet benyttet:

---

*) sml. Fodnote p. 168.

1. Intravaskulær Blodpladedestruktion ved Saponininjektion (p. 173).

2. Fjernelse af Blodpladerne ved:

simpel Aareladning (een eller flere Gange igennem kortere eller længere Tid) (p. 192).

Aareladning og Geninjicering af det samme Dyrs defibrinerede Blod. (p. 203).

Aareladning og Geninjicering af de ved Blodudtømmelse fjernedes Erythrocyter og Leukocyter (p. 210).

Til Forsøg over Parallelisme maatte — at dømme efter tidligere fremkomne Meddelelser — Pyrodin (p. 213) og Pepton (p. 220) anses for at være egnet.

FORSØG MED SAPONIN.

Tidligere Undersøgere.

Saponin er blevet benyttet til at vise Megakaryocyternes Betydning som Blodpladedannere.

I 1909 meddelte *Aynaud*, hvorledes Injektion af 66 mgr. Saponin hos en Hund straks fremkaldte en comatøs Tilstand samtidig med at alle Blodplader paa faa Minutter forsvandt fra Cirkulationen. Forsøget strakte sig kun over 1½ Time. Tilsidst optraadte Blodpladerne igen, lejret i smaa Hobe, men var nu i Antal reduceret til ¼ af det normale. *Firket* ansaa denne Saponinvirkning for uspecifik og stillede den i Klasse med f. Eks. Peptonshocket.

Efter at have iagttaget højt Blodpladetal hos en Kanin efter gentagne Saponininjektioner anstillede *Bunting* i 1909 2 Forsøg med Saponin hos denne Dyreart. Dosis, der kun findes angivet for det ene Tilfældes Vedkommende, var 4 mgr. Hos begge Kaniner faldt Blodpladetallet fra ca. 800.000 til ca. 150.000; Minimum naaedes 3. Dag for derpaa jævnt at stige til 1.000.000 den 16. Dag efter Injektionen. I Snitpræparater var Megakaryocyternes Antal 19 pr. Fladeenhed, naar Blodpladetallet var ved Minimum, derimod 31 ved Maximum. (Sammenlign Megakaryocyttællemetoderne p. 145).

Aarsagen til Blodpladernes karakteristiske Regenerationsmaade antog *Bunting* dels skyldtes Beskadigelse af Knoglemarven (Nekrose, eventuelt Bindevævsdannelse), dels den fra første Færd intensive Blodpladedestruktion.

Isaak og *Möckel* (1911) undersøgte Saponins Indvirkning paa de bloddannende Organer. Knoglemarvsforandringernes Art rettede sig efter Giftvirkningens Varighed. De første Par Uger saas undertiden Nekrose eller regressive Forandringer. 2 Maaneder efter Injektion af ialt 7 mgr. Sapotoxin indtraadte fuldstændig Destruktion. Fedtvævet var erstattet med fast, fibrøst Bindevæv, hvori der hist og her lod sig se smaa Hobe af Blodstamceller. I Milten fremkaldtes meget stærk myeloisk Metaplasi.

Pappenheim nævner (i 1911) Blodpladehenfaldet og Hæmorrhagierne efter Saponininjektion.

Firket har (bl. a. i 1922) indgaaende undersøgt Saponins Virkning paa Erythrocyter og Blodplader in vitro og in vivo, samt Stoffets Indflydelse paa Vævene. Præparaterne har dels været chemisk rent Saponin (Heil), dels Mercks Præparat, og Doserne har været svingende, fra ½—7½ mgr. pr. kg. Dyr. *Firket* fandt, at Regenerationstiden var 6—10 Dage. Allerede 4. 5. Dag efter Injektionen bemærkede han imidlertid, hvorledes der optraadte overmaade mange Megakaryocyter i Milten (og i Lymfeglandlerne, naar Milten var exstirperet). Dette gav sig ikke straks tilkende i Forløbet af Blodpladernes Regeneration, hvilket maatte synes at være i Modstrid med Wrights Teori. Ved histologisk Undersøgelse af Megakaryocyterne i Udstrygningspræparaterne mente *Firket* at kunne paavise Aarsagen. I den første Ugestid efter Saponininjektionen fandtes næsten udelukkende lymfoide Megakaryocytformer, som ifølge Sagens Natur ikke besad Evne til at danne Blodplader. Saasnart de granulerede Celleformer imidlertid begyndte at optræde i stort Antal, øgedes Blodpladetallet stærkt.

Egne Undersøgelser.

For at underkaste de ovenomtalte Fund en nøjere Efterprøvelse, har jeg ialt anstillet 10 Forsøg med Saponin paa Kaniner.

Det har været min Hensigt at se, om Blodpladernes og Megakaryocyternes Antal efter Saponininjektion gennemløb de beskrevne Svingninger, samt om der lod sig paavise nogen Forbindelse mellem de nævnte Formelementers Regenerationsforhold. Endvidere har jeg søgt Oplysninger om de forskellige Megakaryocytformers indbyrdes Mængdeforhold under Forsøgenes Forløb.

Idet Saponinpræparaternes Virkning maa antages at være forskellig efter de Maader, hvorpaa de er fremstillet, har jeg anvendt baade »gereinigt« Saponin (Kahlbaum) og Saponinum purissimum (Merck). Det sidste er benyttet til de afgørende Forsøg (5.—6.—7.—8.).

Begge Præparater er umiddelbart før Brugen blevet opløst i Ringers Væske og injiceret i Ørerandvene.

For at undgaa lokalirriterende Virkninger, har jeg altid injiceret Saponin i en 1‰ Opløsning. I Forsøgsberetningerne angives Dosis som hele den Saponinmængde, der gives pr. Gang.

For at gøre Forsøgsbetingelserne saa ens som muligt og derigennem skabe større Ensartethed i Bedømmelsen af Resultaterne har jeg givet samme Dosis pr. kg. hos de 4 Kaniner, paa hvilke de egentlige Forsøg blev anstillet. (5.—6.—7. og 8.).

Saponininjektionerne blev altid foretaget, efter at Blodundersøgelserne var blevet anstillet. Blodpladetælling udførte jeg i de 4 første Forsøg efter den modificerede Thomsen-Mikrometode; til de øvrige er benyttet Centrifugeringsmetoden.

Dyrene er dræbt, seceret og videre undersøgt efter den for samtlige Forsøgsrækker gældende Regel.

Forsøgene 5—10 vil blive refereret udførligt. De øvrige (1—4) omtales mere i Forbigaaende, dels fordi Blodpladetællemetoden ikke var den bedste, dels fordi det Saponinpræparat, jeg benyttede i de tre af Tilfældene, ikke senere fandt Anvendelse. Saavidt det lod sig bedømme, syntes Svingningerne i Blodpladetallet i 4. Forsøg at fremtræde paa samme karakteristiske Maade som ved de senere anstillede Forsøg 5—8. Jeg har derfor betragtet Forsøg 4 som et Supplement til og en Bekræftelse af de endelige Forsøg.

I Forsøg 9 og 10 har jeg tilsigtet, ved meget smaa Doser, at undgaa den toxiske Saponinvirkning paa de røde Blodlegemer. Samtidig haabede jeg at bibeholde den karakteristiske Saponinvirkning paa Blodpladerne.

1. Forsøg.

(Med stor Saponindosis).

Sølvkanin, ♀, Vægt 2660 gram.

Sahli: 80 Erythr. 4.600.000 og Blodplader (1.034.000).*)

2 ctgr. Saponin (Kahlbaum) injiceres.

Dyret bliver hurtigt meget sløjt. 3 Timer efter findes Sahli: 71, Erythr. 3.985.000 samt Blodplader (500.000).

Næste Dag dør Dyret. Prox. ¼ af Marven i det 9,5 cm. lange Femur er Sæde for konfluerende Blødninger.

Mikroskopi: I Lungekredsløbet findes ingen Megakaryocyter. Knoglemarven: normal Fedtmængde, Megakaryocyternes Form meget uregelmæssig, fremkommet derved, at mange er i Begreb med at gaa over i Karrene (Flugt fra Marven). Især i prox. Del af Femurs Marv er Karfylden stærk.

Megakaryocytdifferentialtælling: h. Femur: 474—7—81—3—12F—6D = 583; $\frac{583}{5} = 116{,}6 : 117$.

2. Forsøg.

(Med lille Saponindosis).

Sølvkanin, ♂. Vægt 2230 gram.

Sahli: 76, Erythr. 5.910.000 og Blodplader (477.800)

4 mgr. Saponin (Kahlbaum) injiceres.

Dagen efter findes: Sahli: 34, Erythr. 2.460.000 samt Blodplader (591.000).

Dyret dræbes straks efter, for at muliggøre Sammenligning med 1. Forsøg. h. Femurs max. Længde 9 cm. h. Tibias max. Længde 10 cm.; Overganslinien 4,5 cm. fra Tibias distale Ende.

*) I disse og senere Forsøg sættes Blodpladetallene i Parentes, naar Tællingerne er blevet foretaget efter de mere mangelfulde Metoder, som jeg benyttede, inden Centrifugeringsmetoden havde ladet sig angive.

Mikroskopi: i Lungekapillærerne ses en enkelt »nøgen« Megakaryocytkærne; i Milten ligeledes en enkelt granuleret Megakaryocyt, beliggende i et Kar. Knoglemarven: Fedtmængden normal ($^1/_2$), Megakaryocyternes Form naturlig, ingen særlig Karfylde. Desuden ses en stor Mængde velbevarede Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling: h. Femur: 420—6—136—57—2W—119F—5D —1K = 746; $\frac{746}{5}$ = 149,2; 149.

3. Forsøg.

Firkets Forsøg (Nr. 68) ønskes eftergjort. Ved Doseringen søger jeg at gaa frem efter samme Princip som denne. Præparatet (Kahlbaum) er et andet, end det af Firket benyttede. Efter nogle Dage at have givet smaa Fordoser, gav jeg større Mængder.

Kanin, hvid, ♂, Vægt 3450 gram.

1. Forsøgsdag viser Blodundersøgelsen: Sahli: 90, Erythr. 5.255.000 og Blodplader (624.000). Denne og hver af de efterfølgende 2 Dage injiceres 4 mgr. Saponin (Kahlbaum).

4. Forsøgsdag er: Sahli: 76, Erythr. 4.045.600 og Blodplader (368.000).

5. Forsøgsdag injiceres 10 mgr. Saponin; Dyret bliver i de efterfølgende Par Timer meget sløjt, og lige før Dødens Indtræden er: Sahli 51, Erythr. 3.320.000 og Blodplader (425.000).

Sektion:

Milten stærkt forstørret, Vægt 5,7 gram; mørkerød, blød. h. Femurs max. Længde 10 cm. h. Tibias max. Længde 11 cm.; Overgangslinien: 4,2 cm. fra distale Tibiaende. Ingen makroskopisk synlig Blødning i Vævene.

Mikroskopi: i Lungekapillærerne ses »nøgne« Megakaryocyter (1 pr. 1,18 mm²); i Milten veludviklede, granulerede Megakaryocyter beliggende i Karrene (1 pr. 0,28 mm²).

I Knoglemarven skønnes Fedtholdigheden at være normal. Blodplader optræder i rigelig Mængde i Karrene.

Megakaryocytdifferentialtælling: h. Femur: 421—3—52—15—1W—2F—3D = 497; $\frac{497}{5}$ = 99,4; 99.

4. Forsøg.

Saponin-(Merck)doserne stiger efter *Firkets* Princip, idet dog de absolutte Mængder er reduceret med $^1/_2$. (Sml. Firkets Forsøg (Nr. 68)).

Harefarvet Kanin, ♀, Vægt 2700 gram.

Sahli: 63, Erythr. 4.405.000, Blodplader (452.200).

1. og 2. Forsøgsdag gives 4 mgr. 3. og 5. Forsøgsdag 10 mgr.

Sahli og Erythrocyttallet aftager jævnt efter den første Injektion indtil 7. (og 8.) Forsøgsdag, hvor jeg henholdsvis finder Værdierne 17 og ca. 1.200.000.

Derpaa indtræder en jævn Stigning, saaledes at Værdierne, fundet ved Forsøgets Begyndelse, naas ca. 30. Dag.

Blodpladetallet falder i det første Døgn til den laveste Grænse (150.000); her holder det sig i 7 Dage efter Injektion. 11. Dag passeres Værdierne for 1. Forsøgsdag, og Blodpladernes Antal er 14. Dag: (1.211.600). Endnu 22. Forsøgsdag er Blodpladetallet af lignende Højde for derpaa at formindskes noget, idet de svinger mellem (700.000—900.000).

Dyret dræbes 32. Forsøgsdag.

Milten vejer 4,8 gram. H. Femurs max. Længde 8,5 cm. H. Tibias max. Længde 9,0 cm.; Overgangslinien lader sig ikke finde, idet rød Knoglemarv synes at naa helt ned i distale Ende af Tibias Marvhule. I Calcaneus og Talus er Marven gul; i Corpora vertebrarum overalt rød.

Mikroskopi: I Lungekarrene ses lige hyppigt granulerede og »nøgne« Megakaryocyter beliggende henholdsvis i de større Kar og Kapillærerne (1 Megakaryocyt pr. 1,72 mm²). Fremdeles lader der sig se talrige Blodplader.

Baade i Milt, Lever og Lymfeglandler findes faa ugranulerede Megakaryocyter samt en Del Blodplader.

Knoglemarven er mere cellerig end normalt, idet Fedtmængden er ringe ($^1/_7$—$^1/_{10}$). Intetsteds ses Bindevævsudvikling.

Megakaryocytdifferentialtælling: h. Femur: 533—11—140—25—2W—6F—2D = 719; $\frac{719}{5}$ = 143,8; 144. — Corp. vert. 391—0—47—7—1F = 446; $\frac{446}{5}$ = 89,2; 89.

5. Forsøg. (Oversigtsforsøg).

Kanin, hvid, ♀, Vægt 2205 gram.

Efter Blodundersøgelsen den første Dag injiceres intravenøst 4 mgr. Saponin (Merck).

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	23/1 24	83	4.180.000	720.000
2	24/1 24	73	3.975.000	142.000
3	25/1 24	66	3.425.000	182.500
4	26/1 24	54	2.975.000	245.500
5	27/1 24	54	2.710.000	275.000
6	28/1 24	43	2.590.000	306.000
7	29/1 24	43	2.355.000	354.500
8	30/1 24	41	2.235.000	523.000
9	31/1 24	46	2.065.000	643.500
10	1/2 24	51	2.415.000	621.500
11	2/2 24	62	2.930.000	900.000
12	3/2 24	72	3.345.000	669.500
13	4/2 24	68	3.230.000	1.021.500
14	5/2 24	76	3.810.000	948.500
15	6/2 24	68	3.415.000	930.000
16	7/2 24	59	3.285.000	672.500

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
17	8/2 24	68	3.735.000	943.000
18	9/2 24	78	3.685.000	666.500
19	10/2 24	64	3.635.000	648.000
20	11/2 24	72	3.475.000	869.500
21	12/2 24	86	4.550.000	705.000
»	»	dræbes Dyret.		

Sektion:

Der findes ingen Blødninger subcutant, intramuskulært, i de serøse Hulheder eller i Organerne.

Milten naturlig, Vægt 1,1 gram. Øvrige Organer naturlige.

H. Femurs max. Længde 10 cm., Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinie findes ikke.

Knoglemarven er i Femur gulgraa, ret fast, nærmest lidt grynet med Undtagelse af ca. ½ cm. prox., hvor Farven er mørkerød og Konsistensen normal. Spredt i den gulgraa Marv findes enkelte, punktformede røde Partier. I Tibia er Marven rød, rigeligere tilstede end normalt; der ses spredte, gullige, knappenaalshovedstore Partier. I Calcaneus er den derimod gul. Knoglemarven er i Humerus, Radius og Ulna rød. Førstnævnte Sted findes hist og her hvidlige, punktformede Partier.

Mikroskopi:

Lunge: Der ses ialt kun et Par »nøgne« Megakaryocyter. Milt: Intet fibrøst Væv. Ingen Megakaryocyter. Øvrige Organer naturlige.

Knoglemarv: Cellemarven er stærkt reduceret ($^2/_7$), idet den røde Marv i ret stor Udstrækning er remplaceret af uregelmæssige, fibrøse Bindevævsstrøg. Disse er snart lokaliseret perifert, snart centralt, oftest optagende ½—¾ af Marvtværsnittet. Megakaryocyterne er meget sparsomt tilstede, undertiden lejret i smaa Hobe. I Bindevævet findes en Del osteoklastlignende Celler. Kun i det proximale Segment og især centralt findes cellerig Marv.

Paa de Steder, hvor der normalt findes rød Marv, synes denne at være blevet stærkt destrueret og dens Plads optaget af Bindevæv og Fedt. I den distale Del af Tibia findes cellerig Marv.

Megakaryocytdifferentialtælling (sml. nederst p. 186): h. Femur: 36—1—5—3 $= 45$; $\frac{45}{5} = 9{,}0$; 9.

Corp. vertebr.: 210—9—38—2—1W—1F—5D—1K $= 267$; $\frac{267}{5} = 53{,}4$; 53.

6. Forsøg.

Kanin, hvid, ♀, Vægt 2175 gram, (samme Kuld som 5. Forsøg).

Efter Blodundersøgelsen den første Dag injiceres intravenøst 4 mgr. Saponin (Merck).

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	23/1 24	82	4.820.000	951.000
2	24/1 24	76	4.260.000	92.000
3	25/1 24	19	97.500	37.000
»	»	dør Dyret ret pludseligt.		

Sektion:

Slimhinderne hvidgraa; ingen Blødninger omkring de naturlige Aabninger, i Hud, Muskler, serøse Kaviteter. I Lymfeglandlerne findes punktformede Blødninger. Milten: blaarød, Vægt 0,66 gram. Øvrige Organer blege.

H. Femurs max. Lgd. 9,8 cm., Tibias max. Lgd. 10,4 cm. Overgangslinien: 4,5 cm. fra Tibias distale Ende.

Knoglemarven i Femur og Tibia mørkerød, med spredte, punktformede Blødninger. I Hvirvlerne ses subperiostale Blødninger.

Mikroskopi:

Lunge: I større og især i mindre Kar ses lige hyppigt »nøgne« og fuldt granulerede Megakaryocyter (1 pr. 0,59 mm²). Een granuleret Megakaryocyt indeholder en eosinofil Leukocyt; endvidere træffes to granulerede Megakaryocyter med stor, solid Kærne. Ingen Blodplader.

Lever: Ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Milt: Blødning i Vævet. Der optræder ialt kun meget faa Megakaryocyter, oftest med langstrakt Kærne, beliggende i større og mindre Kar. Een stor stærkt farvet, granuleret Megakaryocyt indeholder i Protoplasmaet en eosinofil Leukocyt samt Vakuoler.

Nyre: naturlig.

Lymfeglandel: udbredte Blødninger i Vævet. Der ses kun faa granulerede Megakaryocyter, Cellerne er kun nogenlunde farvede; Kærnerne som Regel vel bevarede.

Knoglemarv: Fedtvævet rigeligt tilstede: $^2/_3$—¾.

Megakaryocytdifferentialtælling:

h. Femur: 219—12—1—0—1W—2F = 235; $\frac{235}{5}$ = 47.

7. Forsøg.

Kanin, hvid, ♂, Vægt 2930 gram.

Efter Blodundersøgelsen den første Dag injiceres intravenøst 5,3 mgr. Saponin (Merck).

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	15/2 24	106	6.035.000	712.500
2	16/2 24	87	5.495.000	274.000
3	17/2 24	91	4.885.000	115.500
4	18/2 24	83	4.155.000	99.500
5	19/2 24	65	3.560.000	99.500
»	»	dræbes Dyret.		

Sektion:

Milt: Vægt 1,5 gram. Lymfeglandler: let forstørrede, rødligt spættede. Øvrige Organer: naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinien er ikke tydelig tilstede.

Knoglemarv: Femur: i prox. $^2/_3$ er Marven gulgraa, fast med enkelte røde Punkter; Resten af naturlig rød Farve og Konsistens. Tibia: i prox. og dist. $^1/_3$ er Marven gulgraa, i midterste $^1/_3$ rødlig spættet. Hvirvlerne: ensartet rød Marv. Calcaneus: gul Marv.

Mikroskopi:

Lunge: I hvert Snitpræparat findes flere store granulerede Megakaryocyter med velbevaret Kærne samt en Del smaa »nøgne« Megakaryocyter.

Lever: I Kapillærerne findes adskillige velbevarede Megakaryocyter.

Milt: I flere Snitpræparater ses ialt kun 2 veludviklede, granulerede, intravaskulært lejrede Megakaryocyter med velbevaret Ringkærne og »hyalin« Randzone.

Nyre og Lymfeglandel: ingen Megakaryocyter.

Knoglemarv: Fedtvævet rigeligt tilstede ($^4/_5$). De granulerede Megakaryocyters Kærne er undertiden opløst i Smaabrokker; andre Steder ses hele Cellelegemet flosset, Kærnen diffust farvet. Karrene stærkt blodfyldte, hist og her tvivlsom Blødning. Imellem Marvcellerne findes strukturløse Strøg, lignende Exsudat.

Megakaryocytdifferentialtælling:

h. Femur: 143—2—9—2—3F = 159; $\frac{159}{5}$ = 31,8; 32.

Corp. vertebr.: 88—2—9—8—2F—1D = 110; $\frac{110}{5}$ = 22,0; 22.

8. Forsøg.

Kanin, hvid, ♂, Vægt 3290 gram.

Efter Blodundersøgelsen den første Dag injiceres intravenøst 6 mgr. Saponin (Merck).

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	15/2 24	73	4.980.000	702.500
2	16/2 24	67	4.105.000	203.500
3	17/2 24	62	3.470.000	219.000
4	18/2 24	58	3.210.000	218.000
5	19/2 24	48	3.015.000	245.500
6	20/2 24	52	2.910.000	247.000
7	21/2 24	47	2.890.000	420.000
8	22/2 24	55	3.220.000	557.000
»	»	dræbes Dyret.		

Sektion:

Milt: brunrød, Vægt 2,1 gr. Lymfeglandel: forstørret, spredt i Vævet ses røde Punkter. Øvrige Organer naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 9,7 cm., Tibias max. Lgd. 10,8 cm. Overgangslinien 4,5 cm. fra distale Ende af Tibia.

Knoglemarven overalt naturlig.

Mikroskopi:

Lunge: I hvert Snitpræparat findes kun enkelte saavel granulerede som »nøgne« Megakaryocyter. Der ses een Megakaryocyt med langstrakt, ret mørk Kærne, indeholdende 2 polynukleære Leukocyter i det granulerede Protoplasma.

Lever: En Del veludviklede granulerede Megakaryocyter i Karrene. (lidt færre end i Leveren ved 7. Forsøg).

Milt: Mange granulerede Megakaryocyter med ringformet Kærne og tydelig Randzone. (1 pr. 0,04 mm²).

Nyre og Lymfeglandel: Ingen Megakaryocyter.

Knoglemarv: Fedtmængde $^1/_3$—$^1/_2$. Mange granulerede Megakaryocyter indeholder Erythrocyter og Leukocyter. De Kæmpeceller, der viser uskarp Begrænsning (begyndende Henfald), indeholder i Protoplasmaet hverken Leukocyter eller Erythrocyter.

Megakaryocytdifferentialtælling:

h. Femur: 116—6—29—12—8W—8F—2D = 181; $\frac{181}{5}$ = 36,2; 36.

Corp. vertebr.: 244—1—45—10—4W—10F—2D = 316; $\frac{316}{5}$ = 63,2; 63.

9. Forsøg.

Kanin, (Bæver), ♂, Vægt 2000 gram.

Efter Blodundersøgelsen den første Dag injiceres intravenøst 1 mgr. Saponin (Merck).

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	27/5 24	78	5.520.000	468.000
2	28/5 24	70	5.245.000	723.000
3	29/5 24	70	5.020.000	687.000
4	30/5 24	74	3.600.000	584.000
5	31/5 24	76	4.335.000	415.000
6	1/6 24	65	3.860.000	432.000
»	»	dræbes Dyret.		

29/5, 30/5 og 31/5 er Koagulationstendensen øget, specielt de to førstnævnte Dage, hvorfor Blodprøven maa tages med paraffineret Kanyle fra Halsvene.

Sektion:

Milt: Vægt 1,25 gram. Øvrige Organer: ingen Forandr.

H. Femurs max. Lgd. 9,5 cm., Tibias max. Lgd. 10,5 cm. Overgangslinien 4,5 cm. fra Tibias distale Ende.

Knoglemarv: normal Farve og Konsistens.

Mikroskopi:

Lunge: Ingen Megakaryocyter, ingen sikre Blodplader. Øvrige Organer: naturlige. Ingen Megakaryocyter, ingen Blodplader.

Knoglemarv: Fedtholdigheden naturlig ($^1/_5$). Der ses kun i Arterierne faa Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

h. Femur: 307—5—92—25—18W—10F—5D = 462; $\frac{462}{5}$ = 92,4; 92.

Corp. vertebr.: 365—11—4—2—16W—2F—1D = 401; $\frac{401}{5}$ = 80,2; 80.

10. Forsøg.

Kanin, (Bæver), ♂, Vægt 2170 gram.

Efter Blodundersøgelsen den første Dag injiceres intravenøst 1 mgr. Saponin (Merck).

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	2/6 24	80	5.450.000	518.000
2	3/6 24	73	5.045.000	392.000
3	4/6 24	78	5.360.000	637.000
4	5/6 24	74	5.225.000	450.000
5	6/6 24	71	4.560.000	433.500
»	»	dræbes Dyret.		

Da Koagulationstendensen er stærkt tiltaget fra og med 4/6, maa Blodprøverne tages med paraffineret Kanyle fra Halsvene.

Sektion:

Milt: Vægt 1,2 gram. Øvrige Organer naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinien 5,5 cm. fra distale Tibiaende.

Knoglemarven: rødbrun, ensartet.

Mikroskopi:

I ingen af Organerne ses Megakaryocyter, derimod enkelte Blodplader i Karrene i Lever, Nyre og Lymfeglandel.

Knoglemarven: Fedtmængden normal ($^1/_5$). Ingen Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

h. Femur: 286—2—30—19—18W—4F—2D = 361; $\frac{361}{5}$ = 72,2; 72.

Corp. vertebr.: 160—10—34—2—7W—2F = 215; $\frac{215}{5}$ = 43,0; 43.

Resumé:

I det foregaaende har jeg refereret 10 af mig anstillede Saponin-Forsøg; det 5., 6., 7. og 8. udgør de egentlige Experimenter og skal først omtales.

Saponinum purissimum (Merck) er blevet givet i omtrent samme Dosis til alle 4 Kaniner (2 mgr. pr. kg.). Denne Saponinmængde virkede paa to forskellige Maader; enten havde den Døden tilfølge efter faa Dages Forløb (6.), eller ogsaa overlevede Kaninerne Injektionen. Det sidste var det hyppigste (5. 7. og 8.).

Blodpladernes Antal blev straks i Tilslutning til den intravenøse Injektion af Saponin stærkt formindsket. Minimum naaedes 1.—3. Dag (5., 6., 7., 8.); herpaa fulgte en jævn Stigning, idet Begyndelsesværdierne atter fandtes 10.—11. Dag (5.). Blodpladereduktionen samt Regenerationen forløb fra Gang til Gang med saa stor Ensartethed, at Blodpladernes talmæssige Svingninger lod sig forudsige. Det blev herved muligt at gribe ind paa de Tidspunkter, der maatte regnes for at have særlig Interesse for en Sammenligning mellem Blodpladernes og Megakaryocyternes Antal. Kurvernes videre Forløb var til Gengæld meget vekslende, idet Blodpladernes Antal svingede uden at følge nogen fast Regel snart over snart under det normale.

I det ene Tilfælde, hvor Kaninen døde 3 Dage efter Injektionen, viste Hæmoglobinprocent, Erythrocyter og Blodplader et særlig stærkt Fald med minimale Værdier i Dødsøjeblikket.

Erythrocyternes Antal samt Hæmoglobinprocenten aftog fra Injektionsøjeblikket til et Minimum, der naaedes den 8.—9. Dag. Herefter fandt der en langsom Stigning Sted, saaledes at normale Værdier atter lod sig se 21. Forsøgsdag (5.).

Ved Sektionen fandt jeg, bortset fra Miltforstørrelsen samt Blødninger i Lymfeglandler, kun Forandringer i Knoglemarven. Disse optraadte saavel i Rør- som spongiøse Knogler og var enten acute, subacute eller chroniske Følger af Saponininjektionen.

I 5., 6., 7. og 8. Forsøg havde kun een Kanin (8.) makroskopisk normal Marv.

Indtil 3.—5. Dag efter Saponininjektionen var Knoglemarven dybt rød som Følge af stærk Blodholdighed. Der saas punktformige, mere

eller mindre sammenflydende Blødninger. Overgangslinien i Tibia var enten tilstede (3. Dag (6.)) eller næppe synlig (5. Dag (7.)).

Senere havde Marven ændret Konsistens og Farve. Den var fast, Farven undertiden graa, og der saas uregelmæssige Bindevævsstrøg isprængt graarøde Partier (21. Dag (5.)).

Firket har en enkelt Gang gjort lignende Fund, og *Isaak* og *Möckel* har som tidligere nævnt ret indgaaende beskrevet Forandringer i Knoglemarv efter Saponininjektion.

I den nærmeste Tid efter Injektionen optraadte Blødninger i Hvirvlernes Marv og Periost, senerehen var Marven næsten altid normal, ensartet rød.

Ved den histologiske Undersøgelse af Knoglemarven viste Vævselementerne sig at være mere eller mindre beskadigede.

Ved de acute Forandringer var samtlige Marvkar stærkt udspilede, især af røde Blodlegemer, og der syntes at være Blødning i Vævet. Megakaryocyternes Lejring og Form var ofte paa karakteristisk Maade forandret. Adskillige laa i de sinøse Kar, og mange var i Begreb med at gaa gennem Karvæggen. Undertiden var det sidstnævnte Tilfældet i en saadan Grad, at man fik Indtrykket af en »Flugt fra Marven«. Ved de subacute Forandringer viste Vævet Overgange til de chroniske. Sidstnævnte gav sig tilkende paa følgende Maade: paa større eller mindre Partier var Femurs Marv fortrængt af et ensartet, fibrøst, regelløst anordnet Væv. Marven distalt i Tibia var ofte mere cellerig end normalt; Megakaryocyternes Antal var dog stadig faatalligt heri. Bindevævsforandringerne anser jeg for at være Ar efter den primære, disseminerede Saponinbeskadigelse. Marvhyperplasien distalt i Tibia maa være Udtryk for en vis Kompensation. I de spongiøse Knoglers Marv har jeg ikke set tilsvarende dybtgaaende Forandringer.

De mere eller mindre gennemgribende Ændringer, som Knoglemarven in toto undergaar ved Saponininjektion, har ogsaa paa andre Maader givet sig tilkende for Megakaryocyternes Vedkommende. Disse Cellers Antal og Fordeling svingede efter Graden og Lokalisationen af Saponinbeskadigelserne. I de mere cellerige Marvafsnit saas ingen kompensatorisk Forøgelse af Megakaryocyternes Antal.

Det er forstaaeligt, at store Tilfældigheder vil kunne gøre sig gældende, naar man ved Undersøgelse af et enkelt Snit søger at danne sig et Begreb om det totale Megakaryocyttal hos saponinbehandlede Dyr.

For dog at danne mig et vist Skøn over Megakaryocytholdigheden i Femurs og Hvirvlernes Marv, har jeg, i Tilslutning til de karakteristisk forløbende Faser i Blodpladesvingningerne, foretaget en numerisk Opgørelse af Megakaryocyterne. Resultaterne heraf vil imidlertid ikke være egnet til Sammenligning med de Tal, som jeg dels har vundet fra normale Individer, dels fra de forskellige Forsøg, jeg har anstillet. Grunden hertil er, at den toxiske Beskadigelse af Knoglemarven ganske har forrykket det Grundlag, hvorpaa Tællemetoden oprindelig er blevet baseret.

Megakaryocyternes samlede Antal var i Femur formindsket til omtrent det halve af det normale (32—47), hvadenten Forsøgene havde strakt sig over 3 eller 8 Dage (6., 7. og 8. Forsøg). Een Gang (5. Forsøg) havde de fibrøse Forandringer været saa gennemgribende, at der kun lod sig finde 9 Megakaryocyter (efter 21 Dage).

I de spongiøse Knoglers Marv laa Megakaryocyttallet enten ved det normales underste Grænse (53—63 (i 5. og 8. Forsøg)) eller meget under det normale (22 (i 7. Forsøg)).

De ovenfor nævnte Værdier fandtes, hvadenten Blodpladetallet, naar Dyrene blev dræbt, var 37.000 eller 705.000.

Megakaryocyterne syntes ikke at deltage i den kompensatoriske Marvhyperplasi, der lod sig finde i Extremiteternes distale Knogleende.

Da Tællingerne var blevet udført som Differentialtællinger, kunde jeg tillige i Femur bestemme Forholdet mellem granulerede og ugranulerede Megakaryocyter, de Wrightske Figurers Antal samt Mængden af »fagocyterende« Megakaryocyter.

Svarende til lavt Blodpladeantal fandt jeg (pr. 500 Synsfelter) $\frac{231 \text{ granul.}}{1 \text{ ugranul.}}$ 1W, 2F, (6.), $\frac{145 \text{ granul.}}{11 \text{ ugranul.}}$ 3F (7.); svarende til stigende Blodpladeantal fandt jeg $\frac{122 \text{ granul.}}{41 \text{ ugranul.}}$ 8W, 8F, (8.), og svarende til normalt (eller højere) Blodpladeantal fandt jeg $\frac{37}{8}$ (5.).

Som det ses, optræder de Wrightske Figurer meget sparsomt;

under Blodpladestigningen findes de dog i normalt Antal. De »fagocyterende« Megakaryocyter er meget faatallige.

Saponin fremkaldte endvidere stærk Megakaryocyt-Emigration fra Knoglemarven. Allerede fra 3. Dag saas ugranulerede og granulerede Megakaryocyter i Lungekarrene og Organerne. Endnu 21. Dag lod enkelte »nøgne« Megakaryocyter sig finde i Lungekapillærerne.

At det er Knoglemarvens Megakaryocyter, der af Cirkulationen er blevet ført rundt i Organismen, synes flere Ting at tale for.

Megakaryocyterne optræder saaledes først i Lungekapillærerne, senere i det store Kredsløb. Cellerne iagttages først i Organernes Kar og klemmer sig derpaa igennem Karvæggen. Andre Marvceller optræder sparsomt i Organerne (svarende til *Firkets* Iagttagelser).

Fra den ovenfor beskrevne Reaktionsmaade har de Kaniner afveget, der fik større eller mindre Saponindoser.

I Forsøg 4 injiceredes ialt 28 mgr. Sapon. puriss. Merck, en Dosis, der i Sammenligning med den Virkning, Kahlbaums Præparat gav (1.), maa anses for temmelig stor.

Der vil ikke kunne tillægges de fundne absolutte Blodpladetal nogen afgørende Betydning, da Tællingerne er blevet udført efter en noget mangelfuld Metode. Svingningerne syntes dog at forløbe i Overensstemmelse med de ovenfor beskrevne, ligesom Regenerationen strakte sig over ca. 11 Dage.

I Knoglemarven fandtes ingen fibrøse Forandringer. Overgangslinien manglede, idet Tibia indeholdt rød Marv overalt.

Megakaryocyttallene i Femur og Corpora vertebrarum laa over den øverste normale Grænse.

Den store Saponindosis har saaledes fremkaldt Blodpladesvingninger lignende de tidligere beskrevne. I Knoglemarven har Stoffet fremkaldt Hyperplasi, ogsaa af Megakaryocyterne. Der har ikke la det sig paavise fibrøse Forandringer i den Del af Knoglemarvssystemet, jeg har undersøgt.

I 9. og 10. Forsøg fremkaldte meget smaa Doser tydelig Anæmi. Blodpladerne gav derimod ikke deres karakteristiske Reaktionsmaade tilkende, idet jeg i 9. saa primær Blodpladestigning, i 10. det modsatte, et mindre, primært Fald. Da Dyrene blev undersøgt 5.

og 6. Dag efter Injektionen, var Megakaryocyttallene normale og Overgangslinien af normal Beliggenhed.

Saponin bør som Følge af sine toxiske, almen destruerende Egenskaber overfor de bloddannende Organer og den uberegnelige Udstrækning, hvori Marven læderes, anses for uegnet til at fremkalde elektiv Virkning paa Megakaryocyt-Blodpladesystemet. Stoffet er derfor uanvendeligt til Bedømmelse af, hvorvidt der findes et talmæssigt Forhold mellem de nævnte Elementer.

Naar tidligere Undersøgere har sat de af Saponin fremkaldte Endringer i Blodpladetallet i genetisk Forbindelse med een bestemt Celleart indenfor Knoglemarven, er dette ukorrekt. Ved Saponinpaavirkningen kan det i det højeste komme til at dreje sig om en Pseudo-Samhørighed mellem Megakaryocyternes og Blodpladernes Svingninger i Lighed med den, Røntgenstraaler eller Benzol f. Eks. fremkalder.

Et enkelt af mine Saponinforsøg (4.) kunde maaske, ved at blive betragtet isoleret, synes at tale for Wrights Teori. De Resultater, jeg har opnaaet ved de andre Saponin-Forsøg, peger dog i anden Retning.

Saavel Megakaryocyter som Blodplader synes baade kortere eller længere Tid efter Saponininjektionen at være to af hinanden uafhængige Formelementer. Dette er i Modstrid med *Buntings* Iagttagelser.

At der saaledes til Blodpladeregenerationernes forskellige Faser ikke har ladet sig finde tilsvarende Variationer i Megakaryocyternes Antal og Former, taler til Ugunst for Wrights Teori.

De lymfoide Megakaryocyter har ved alle Forsøgene været i Minoritet. *Firkets* Hypothese om, at der i Knoglemarven kun fandtes ugranulerede Celler, naar Blodpladernes Antal efter Saponininjektion var ringe, har hermed ladet sig modbevise.

De karakteristiske Kurver for Blodpladernes Destruktion og Regeneration, som jeg har faaet efter Saponininjektion, stemmer overens med de af tidligere Undersøgere iagttagne.

A. AARELADNINGSFORSØG.

1. FORSØG MED SIMPEL AARELADNING.

Tidligere Undersøgelser.

At Blodplader regenererer hurtigere end Erythrocyter, har allerede *Hayem* (1882) og *Fusari* (1886) vist efter Aareladning og ved kliniske Iagttagelser.

Ricardson (1905) undersøgte Blodpladesvingningerne i det perifere Blod hos Kaniner efter Aareladning.

Le Sourd og *Pagniez* (1906) har hos en Kanin, nogle Dage efter en svær Aareladning, foretaget Undersøgelse (á là Hæmatokrit) af Blodpladernes Volumen. Han kunde herved konstatere næsten dobbelt saa mange Blodplader som under normale Forhold.

Bunting har i 1909 anstillet Aareladningsforsøg med 2 Kaniner. Ved jævnlig Blodundersøgelse i henholdsvis 11 og 4 Døgn efter een Aareladning (30 cm³), fulgte han bl. a. Blodpladetallets Svingninger. Han fandt: et primært Fald svarende til Blodudtømmelsen, en sekundær Stigning til over det normale (»Thrombocytose«) og, dersom Dyret fik Lov til at leve, en Tilbagevenden til normale Værdier. I det Forsøg, der strakte sig over 4 Dage, viste Megakaryocyttallet sig at være 47. Tællingen (a. m. *Bunting*) blev foretaget paa det Tidspunkt, da Blodpladeregenerationen var stærkest i Tiltagen. 46 % af Megakaryocyterne var næsten fuldstændig eller helt blottet for Protoplasma, hvilket blev betragtet som Tegn paa stor Knoglemarvsaktivitet.

Ud fra den Kendsgerning, at Blodpladernes Antal er forøget ved Anæmier, anstillede *Ogata* (1912) nogle Forsøg paa Kaniner. Ved daglig at fjerne 10—20 cm³ Blod fra Ørevene i 8—14 Dage, søgte han i Knoglemarven at øge de Billeder, der maatte ses som Udtryk for Blodpladeproduktion. Uden at komme videre ind paa Enkelthederne, sammenfatter *Ogata* sine Resultater paa følgende Maade: Jo længere og jo rigeligere Blodtabet er, desto større er ogsaa Forekomsten af Megakaryocyter i Knoglemarven. Tælling af disse Celler (a. m. *Ogata*) viser Forøgelse til det dobbelte af det normale (fra 70 til 140), og svarende hertil findes tillige en Forøgelse af de Wrightske Figurer (bl. a. af de Celler, der viste »Felderung«).

Schilling (1913) omtaler Blodpladernes talmæssige Forhold hos normale og anæmiserede Kaniner.

Le Sourd og *Pagniez* (1913) ser, hvorledes Blodpladernes Antal i Milten forøges efter een eller flere Aareladninger. Efter Blodudtømmelse regenereres disse Blodlegemer hurtigt.

Ferrata og *Negreiros-Rinaldi* (1914) synes som Regel ved gentagne Aareladninger af Marsvin og Kaniner (baade med og uden paafølgende Injektion af Pyrodin i smaa Doser) at have opnaaet en betydelig Blodpladeforøgelse. Var denne udtalt, blev den næsten altid efterfulgt af en tydelig Overproduktion af Megakaryocyter, specielt Wrightske Figurer. Allerede faa Timer efter Injektionen lod dette sig paavise.

Cesaris-Demel kan ikke (i 1916—1919) ved Aareladning af Katte opnaa Resultater (m. H. t. Blodpladestigning), der er bedre end efter Pyrodininjektion. *Foà* har paa Kaniner faaet tydelige Resultater efter Aareladning.

Degkwitz (1920) anstillede lignende Aareladningsforsøg paa Kaniner som *Bunting*. I Tilslutning til et Blodtab paa 30 cm³ viste Blodpladerne et middelstærkt Fald; 3. Dag herefter forekom normale Værdier og derpaa saas, i Modsætning til hvad der var Tilfældet med Erythrocyterne, sekundært en moderat Stigning. Paa 8. Dag fandtes atter normale Forhold.

Egne Undersøgelser.

De af tidligere Undersøgere indvundne Resultater stemmer overens deri, at Aareladning fremkalder en Stigning i Blodpladetallet, og at saavel Megakaryocyternes absolutte Mængde som de Wrightske Figurers Antal i Knoglemarven samtidig hermed er tiltaget.

Paa Forhaand var der ikke Grund til for mig at nære Tvivl om, at disse Opfattelser hvilede paa korrekt Grundlag. Ud fra visse Iagttagelser, jeg paa forskellige Omraader havde haft Lejlighed til at gøre, forekom det mig imidlertid paakrævet at underkaste de af *Ogata* og *Bunting* anstillede Forsøg en nøjere Efterprøvelse med Benyttelse af forbedret Teknik.

Til mine tidligere omtalte Fixations- og Farvningsforsøg havde jeg anvendt et stort Antal Kaniner. Ved denne Lejlighed iagttog jeg, hvor store Variationer Megakaryocyttallet normalt kunde udvise, selv hos

Dyr af samme Kuld og tildels ogsaa, naar Snittene var fra samme Knogle. Da der ikke tidligere synes at være blevet lagt tilstrækkelig Mærke til dette Forhold, formodede jeg, at Angivelserne med Hensyn til Megakaryocyternes Til- og Aftagen hvilede paa usikkert Grundlag.

Det første af de nedenfor anførte Anæmiseringsforsøg blev oprindelig foretaget i den Hensigt at faa kæmpecellerigt Materiale i Hænde til mine Forsøg over Granulafarvningen. Til min store Overraskelse viste det sig, at Megakaryocyterne i Knoglemarven ikke var forøget i Antal efter 10 Dages Aareladning. Dersom den tidligere beskrevne Megakaryocytforøgelse saaledes ikke var et konstant Fænomen, maatte en saadan Iagttagelse yderligere anspore til nøjere Undersøgelse.

Til Fremkaldelse af Blødningsanæmier hos Kaniner har jeg benyttet de af *Bunting* og *Ogata* anvendte Fremgangsmaader. Herved har jeg dels undersøgt Virkningen af een stor Aareladning, dels bragt en langvarig og svær Anæmi til Udvikling.

Ved begge Forsøgsrækker er ved daglig Blodundersøgelse Anæmiens Forløb blevet fulgt, ligesom Blodpladetallets Svingninger fra Dag til Dag er blevet bestemt. Fremdeles har jeg noteret Tidspunktet for Lipæmiens Optræden samt dennes omtrentlige Styrke.

Efter at Dyrene var dræbt, talte jeg Megakaryocyterne i Rørknoglerne og ofte ogsaa i de spongiøse Knogler.

Experimenterne har været vekslende med Hensyn til Blodudtømmelsens Størrelse, Forsøgenes Varighed og de Synspunkter, jeg for de enkelte Forsøgsgruppers Vedkommende har anlagt.

Først skal jeg omtale 6 Forsøg (1.—6.), hvor Kaninerne daglig blev aareladt for forholdsvis store Mængder Blod.

De to første af disse skulde nærmest tjene til Orientering med Hensyn til Megakaryocyternes Mængdeforhold. Om Blodpladetallets Svingninger kunde jeg kun danne mig et Skøn, idet Tællemetoderne paa daværende Tidspunkt endnu var behæftet med visse Mangler.

Da det var tænkeligt, at disse Forsøg havde været for kortvarige, prøvede jeg i et 3. Forsøg daglig Aareladning igennem 33 Dage.

Ingen af de nævnte Experimenter syntes at give Resultater svarende til, hvad man kunde vente efter de tidligere Beskrivelser. Jeg

ansaa det som Følge heraf for givet, at de af andre beskrevne Fund maatte være meget inkonstante, eller at de benyttede Undersøgelsesmetoder maatte have været behæftet med betydelige Mangler.

Med forbedret Teknik anstillede jeg derfor 3 Aareladningsforsøg af lidt vekslende Længde (5, 8 og 14 Dage) men som alle faldt indenfor den af *Ogata* angivne Varighed (14 Dage). Disse Experimenter betragter jeg som den egentlige Efterprøvelse af *Ogatas* Forsøg.

Ved to senere anstillede Forsøg (7. og 8.) fjernedes i nogen Tid (15—16 Dage) daglig en meget lille Blodmængde. Det var min Hensigt herved at undersøge, om det spillede større Rolle for Blodpladeregenerationen, at der jævnligt blev foretaget Aareladning fremfor at den daglig udtømte Blodmængde var stor.

I eet Forsøg (9.) (a. m. *Bunting*) fulgte jeg Virkningen af een stor Aareladning, idet jeg lod Dyret leve i 11 Dage efter Indgrebet.

Forsøg med simpel Aareladning.

1. Forsøg.

Kanin, Vægt ca. 1100 gram.

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Den fjernede Blodmængde
1	6/11 22	74	5 cm³
2	7/11 22	68	10 »
3	8/11 22	48	10 »
4	9/11 22	36	10 »
5	10/11 22	25	10 »
6	11/11 22	34	15 »
7	12/11 22	26	10 »
8	13/11 22	25	10 »
9	14/11 22	22	5 »
»	»	dræbes Dyret.	

Fra 4. Dag optræder Lipæmi.

Sektion:

Organerne blege; de fixeres og viderebehandles a. m. Ogata (1912) og a. m. Ellermann.

Mikroskopi:

Lunge: I Kapillærerne ses meget faa »nogne« Megakaryocyter. Milten: enkelte, tvivlsomme Megakaryocyter. Øvrige Organer naturlige.

Knoglemarv: Fedtvævet sparsommere tilstede end normalt.

Megakaryocytdifferentialtælling har ikke ladet sig udføre i fuld Udstrækning, idet de til Grund liggende Præparater var fixeret i Helly-Maximows Væske. De granulerede og ugranulerede Celler er derfor angivet under eet.

H. Femur: 448—11W—5F—6D = 470; $\frac{470}{5}$ = 94,0; 94.

2. Forsøg.

Kanin, ♂, Vægt 3270 gram.

Forsøgs-dag	Dato	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
1	25/9 23	83	5.455.000	(427.250)	ca. 35 cm³
2	26/9 23	63	4.152.500	(287.750)	» 37 »
3	27/9 23	49	2.727.500	(453.000)	» 35 »
4	28/9 23	38	1.942.500	(417.250)	» 35 »
5	29/9 23	29	1.647.500	(430.750)	» 35 »
6	30/9 23	27	1.397.500	(590.000)	» 35 »
7	1/10 23	24	1.417.500	(420.500)	» 38 »
8	2/10 23	23	1.062.500	(427.250)	» 37 »
9	3/10 23	26	1.467.500	(205.750)	» 35 »
10	4/10 23 Kl. 10	31	1.527.500	(148.250)	» 35 »
»	» Kl. 2^{45}	22	1.075.000	(361.750)	» 35 »
»	» » 3^{00} dræbes Dyret.				

3. Forsøgsdag er Plasmaet svagt opaliserende, 5. Forsøgsdag optræder tydelig Lipæmi. Blodpladetælling er udført efter den modificerede Thomsen-Mikrometode.

Sektion:

Samtlige Organer blege, ellers naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinien 3,75 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Lunge: meget faa Megakaryocyter, snart granulerede, snart »nøgne«.

Milt: I hvert Præparat (Tværsnit) ca. 10 Megakaryocyter, granulerede, veludviklede; enkelte »fagocyterende«.

I det perifere Blod lader der sig ikke paavise Megakaryocyter.

Knoglemarv: cellerig.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 299—9—108—13—16F—8D = 453; $\frac{453}{5}$ = 90,6; 91.

3. Forsøg.

Kanin, hvid, ♂, Vægt 2430 gram, Sahli 83.

Forsøget strakte sig over 33 Dage, i hvilket Tidsrum der daglig blev fjernet

20 cm³ Blod fra Ørevenerne. Som Kontrol med Anæmiens Grad bestemte jeg daglig Hæmoglobinprocenten.

Angaaende Blodpladetælling og dens Resultater henvises til p. 128.

Hæmoglobinprocenten aftog jævnt, for den 18., 19. og 20. Forsøgsdag at naa Minimumsværdien 14. Under Forsøgets senere Forløb steg Sahli (dog ikke over 25). Et Par Gange nærmede den sig atter den ovenanførte, laveste Værdi.

Paa tredie Forsøgsdag optraadte tydelig Lipæmi, der holdt sig uforandret i de følgende 20 Dage. Plasmaet var fra dette Tidspunkt kun svagt opaliserende. Dyrets Vægt var ved Forsøgets Slutning 2090 gram.

Dyret dræbes.

Sektion:

Organerne: blege, iøvrigt naturlige.

Mikroskopi:

Lunge: baade granulerede og »nøgne« Megakaryocyter (1 pr. 0.86 mm²); den sidstnævnte Art optræder i stort Antal og altid liggende i Kapillærerne; de granulerede ses kun i større Kar.

Lymfeglandel: 3 mindre, granulerede Megakaryocyter (fordelt paa 2 Snitpræparater).

Øvrige Organer: naturlige, ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtcellerne næsten fuldstændig forsvundne.

Megakaryocytdifferentialtælling:

II. Femur: 394—7—149—5—1W—20F—3D = 579; $\frac{579}{5}$ = 115,8; 116.

4. Forsøg.

Kanin, (Bæver), ♂, Vægt 2285 gram.

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
1	17/1 24	104	6.250.000	(461.400)	20 cm³
2	18/1 24	64	4.685.000	(320.800)	20 »
3	19/1 24	54	3.605.000	(566.800)	20 »
4	20/1 24	46	2.850.000	(481.000)	20 »
5	21/1 24	32	1.830.000	(448.000)	20 »
»	»	dræbes Dyret.			

4. Forsøgsdag er Plasma svagt opaliserende; 5. Forsøgsdag tydelig Lipæmi. Blodpladetælling er udført efter den modificerede Thomsen-Mikrometode.

Sektion:

Organerne noget blege, ellers naturlige.

Milt: Vægt 1,3 gram.

II. Femurs max. Lgd. 9,5 cm., Tibias max. Lgd. 10,2 cm. Overgangslinien 4,5 cm. fra distale Ende af Tibia.

Mikroskopi:

Lunge: baade granulerede, veludviklede med Randzone og faa »nøgne« Megakaryocyter (1 pr. 0,44 mm²); de førstnævnte i de middelstore Kar, de sidstnævnte i Kapillærerne.

Milt: ved Gennemsøgning af flere Snit ses kun een svagt farvet, granuleret Megakaryocyt med kransformet Kærne.

Øvrige Organer naturlige; ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarv: Megakaryocyter ofte lejrede i mindre Grupper; temmelig faa optræder i Knoglemarvskarrene. Ingen Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 408—20—56—18—2W—5F—2D—1K = 512; $\frac{512}{5}$ = 102,4; 102.

5. Forsøg.

Kanin, harefarvet, ♂, Vægt 1865 gram.

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
1	29/1 24	80	5.175.000	1.036.500	12 cm³
2	30/1 24	64	4.520.000	493.000	12 »
3	31/1 24	66	3.835.000	457.000	17 »
4	1/2 24	48	2.845.000	474.500	17 »
5	2/2 24	38	2.145.000	955.000	17 »
6	3/2 24	29	1.955.000	556.000	17 »
7	4/2 24	25	2.165.000	678.000	12 »
8	5/2 24	27	1.765.000	402.500	20 »
»	»	dræbes Dyret.			

4.—7. Forsøgsdag er Plasma svagt opaliserende. 8. Forsøgsdag: tydelig Lipæmi. Blodpladetælling efter Centrifugeringsmetoden.

Sektion:

Organerne blege, ellers naturlige. Milt: Vægt 0,7 gram. Øvrige Organer naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 9,3 cm., h. Tibias max. Lgd. 10,1 cm. Overgangslinien 4,3 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Milt: kun een »nøgen« Megakaryocyt i et Kar.

Knoglemarven: Fedtmængden normal (1/5). Kun faa Megakaryocyter i Karrene; en Del Megakaryocyter lejret i Grupper. Ingen Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 439—7—107—7—4W—11F—8D = 583; $\frac{583}{5}$ = 116,6; 117;

Corp. vertebr.: 385—0—43—2—1W—5F—1D = 437; $\frac{437}{5}$ = 87,4; 87.

6. Forsøg. (Oversigtsforsøg).

Kanin, hvid, ♂, Vægt 2040 gram.

Forsøgs-dag	Dato	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
1	28/1 24	83	5.170.000	953.800	12 cm³
2	29/1 24	76	4.240.000	948.500	12 »
3	30/1 24	58	3.710.000	645.000	12 »
4	31/1 24	54	3.555.000	481.000	17 »
5	1/2 24	41	2.500.000	737.500	17 »
6	2/2 24	34	2.195.000	455.000	17 »
7	3/2 24	32	2.265.000	663.500	17 »
8	4/2 24	29	2.195.000	984.000	20 »
9	5/2 24	23	2.300.000	477.000	17 »
10	6/2 24	25	1.795.000	982.500	17 »
11	7/2 24	29	2.100.000	562.000	25 »
12	8/2 24	23	1.845.000	761.000	10 »
13	9/2 24	23	2.295.000	705.500	12 »
14	10/2 24	24	2.390.000	703.000	7 »
»	»	dræbes Dyret.			

Den 5., 6., 9. og 10. Forsøgsdag er Koagulationstendensen øget. 8/2 og paafølgende 2 Dage tages Blodprøverne fra Carotis med paraffineret Kanyle. Fra 2. Forsøgsdag tydelig Lipæmi, de sidste 6 Dage stærkt tiltagende, særlig stærk den 11. Forsøgsdag. Blodpladetælling efter Centrifugeringsmetoden.

Sektion:

Slimhinder og Organer blege, ellers naturlige. Milt: Vægt 0,55 gram.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., h. Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinien 4,8 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Da dette Experiment tjener som Oversigtsforsøg, skal jeg nøjere beskrive de Fund, der har Interesse for nærværende Undersøgelsesgruppe.

Lunge: Megakaryocyter optræder saavel i middelstore og store Arterier som i Kapillærerne (1 pr. 0,17 mm²). Megakaryocyterne forekommer i 2 Former: 1) store og middelstore Celler med en ofte noget sammentrykt, lys, langstrakt Kærne, antagelig svarende til den kransformede Kærne, som Megakaryocyter har i Knoglemarven. Udenom findes en bredere eller smallere Zone af distinkte, elektivt farvede Granula, der ofte ved Kærnens Poler viser Tendens til at samle sig axialt i Karrene. Yderst i Protoplasmaet findes en graagul, skarpt begrænset Randzone. Disse Megakaryocyter udsender undertiden een plump, granuleret Protoplasmaforlængelse i Karrets Længderetning. »Wrightske-Figurer« ses intetsteds, ligesaa lidt som der

indenfor Cellens Begrænsning findes Tendens til Anordning af Granula i blodpladelignende Grupper. Denne Megakaryocytform findes som Regel i Arterierne; yderst sjældent i de fine Kapillærer og da kun i meget langstrakt og sammentrykt Form.

2) Desuden forekommer der en anden, betydelig mindre Celleform, som er omgivet af en smal, ugranuleret Protoplasmabræmme. — Disse Celler svarer uden Tvivl til de af Wright og andre beskrevne »nøgne« Kæmpekærner. Medens Kærnerne er cirkulære eller ellipsoide i Marven, optræder de i Lungekapillærerne under mangfoldige Former: pølseformede, lige eller snoede, undertiden ridende paa en Karspore, hvorved »tredelte« Kærner kan fremkomme. Farven er mørkeblaa, ret ensartet. Diffust farvede Kærner ses næsten aldrig.

Det altovervejende Antal Megakaryocyter ligger enkeltvis i Karrene; af og til vil man dog kunne finde dem beliggende to og to. Een Gang har jeg i et Tværsnit af en middelstor Arterie fundet tre ret svagt farvede, granulerede Megakaryocyter liggende Side om Side.

I nogle Tilfælde bærer Megakaryocyterne Præg af at være i begyndende Henfald. Granula er temmelig svagt farvede, graarøde, eller Cellerne er uregelmæssige, grynede, med flosset Randzone og uden Kærne. Diffus grønlig Kærnefarvning kan ogsaa ses.

Baade normale, fuldt granulerede Celler og ældre Celler i begyndende Henfald kan indeholde kærneholdige Marvceller og Erythrocyter.

Megakaryocyternes Protoplasma indeholder undertiden mindre Vakuoler; disse er af forskellig Størrelse og omgiver kransformet Kærnen. I Tal og Størrelse aftager Vakuolerne udefter mod Cellens Periferi. Vakuolerne optræder fortrinsvis i de slet farvede, uskarpt begrænsede Celler.

Knoglemarv: De i Karrene lejrede Megakaryocyter viser meget tydeligt klare, kolbeagtige, opsvulmede Forlængelser.

Lever og Nyre: Ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Milt: I Karrene findes kun en enkelt, oval, middelstærkt farvet Megakaryocyt med Granula og Randzone.

Lymfeglandel: Ingen Megakaryocyter, derimod ses i sinus et Par smaa Blodpladehobe.

Kun i enkelte Karlumina ses faa Blodplader i Hobe. Fedtceller optræder sparsommere end normalt ($^1/_{10}$).

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 225—1—34—3—3F = 266; $\frac{266}{5}$ = 53,2; 53;

Corp. vertebr.: 203—3—43—3—2F—2D = 256; $\frac{256}{5}$ = 51,2; 51.

7. Forsøg.

Kanin, hvid, ♂, Vægt 2925 gram.

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
1	15/2 24	96	4.950.000	1.131.000	ca. 4 cm³

Forsøgs-dag	Dato	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
2	16/2 24	91	5.810.000	937.500	» 4 »
3	17/2 24	76	4.495.000	953.500	» 4 »
4	18/2 24	89	4.655.000	1.005.500	» 4 »
5	19/2 24	87	4.790.000	885.500	» 4 »
6	20/2 24	70	4.653.000	1.091.000	» 4 »
7	21/2 24	73	2.845.000	1.044.500	» 4 »
8	22/2 24	68	3.525.000	1.484.500	» 4 »
9	23/2 24	70	3.990.000	1.742.500	» 4 »
10	24/2 24	65	3.730.000	1.714.500	» 4 »
11	25/2 24	66	3.025.000	1.791.000	» 4 »
12	26/2 24	60	3.925.000	1.405.500	» 4 »
13	27/2 24	62	4.020.000	975.500	» 4 »
14	28/2 24	59	4.410.000	665.000	» 6 »
15	29/2 24	62	4.080.000	1.413.500	» 3 »
16	1/3 24	70	4.225.000	1.788.000	» 4 »
»	»	dræbes Dyret.			

6., 8. og 9. Forsøgsdag er Plasma let opaliserende.
Blodpladetælling efter Centrifugeringsmetoden.

Sektion:

Milt: Vægt 1,22 gram. Øvrige Organer naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., h. Tibias max. Lgd. 11,2 cm. Overgangslinien 5,8 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Lunge: granulerede og ugranulerede Megakaryocyter. (1 pr. 0,96 mm²). De øvrige Organer: ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtmængden normal ($^1/_5$); en Del langstrakte Megakaryocyter i Karrene eller i Gennemgang; nogle granulerede Megakaryocyter tilsyneladende i Opløsning.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 279—12—49—14—3W—38F—2D—1K = 398; $\frac{398}{5}$ = 79,6; 80.

Corp. vertebr.: 287—1—39—6—15F—6D = 354; $\frac{354}{5}$ = 70,8; 71.

8. Forsøg.

Kanin, harefarvet, ♀, Vægt 2950 gram.

Forsøgs-dag	Dato	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
1	22/3 24	96	4.425.000	780.000	ca. 3 cm³
2	23/3 24	97	5.495.000	821.000	» 3 »
3	24/3 24	88	3.700.000	725.500	» 4 »

Forsøgs-dag	Dato	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
4	25/3 24	79	3.765.000	527.000	» 3 »
5	26/3 24	79	3.630.000	504.500	» 5 »
6	27/3 24	75	3.540.000	591.000	» 3 »
7	28/3 24	73	3.395.000	575.000	» 3. »
8	29/3 24	64	3.290.000	368.000	» 2,5 »
9	30/3 24	56	3.035.000	380.500	» 3,5 »
10	31/3 24	49	2.685.000	348.000	» 2,25 »
11	1/4 24	60	2.570.000	495.500	» 2,25 »
12	2/4 24	57	2.775.000	365.500	» 2,25 »
13	3/4 24	52	3.185.000	285.500	» 2,25 »
14	4/4 24	57	4.920.000	516.500	» 3 »
15	5/4 24	59	3.030.000	535.500	
»	»	dræbes Dyret.			

Allerede fra 1. Forsøgsdag er Plasma opaliserende; denne Farveforandring holder sig uforandret til 11. Forsøgsdag, hvorefter Plasmafarven er naturlig.

Blodpladetælling efter Centrifugeringsmetoden.

Sektion:

Milt: Vægt 0,85 gram. Øvrige Organer naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., h. Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinie 5,2 cm. fra distale Tibiaende.

Knoglemarven: mørkerød, med enkelte fine, længdeforløbende, graagule Partier.

Mikroskopi:

Lunge: i Kapillærerne »nøgne« Megakaryocyter. (1 pr. 1,26 mm^2). Øvrige Organer: ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtholdigheden er svarende til det makroskopiske Fund noget vekslende: i de første 3 Segmenter $^1/_5$, i de sidste 2 Segmenter som oftest $^4/_5$. Der ses Partier, hvor Cellevævet dominerer, derimod findes ikke særlig mange Megakaryocyter heri. »Nøgne« Megakaryocyter ligger hovedsagelig i Karrene.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 257—25—78—47—6W = 413; $\frac{413}{5}$ = 82,6; 83;

Corp. vertebr.: 205—14—33—15—5W—3F—2D = 277; $\frac{277}{5}$ = 55,4; 55.

9. Forsøg.

Kanin, (Bæver), ♀, Vægt 2960 gram.

Forsøgs-dag	Dato	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
1	15/10 24	75	4.925.000	747.500	50 cm^3
2	16/10 24	54	2.880.000	619.000	ca. 1 »

Forsøgs-dag	Dato	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Den fjernede Blodmængde
3	17/10 24	56	3.255.000	617.000	
4	18/10 24	60	3.590.000	711.500	
5	19/10 24	58	3.635.000	761.000	
6	20/10 24	62	3.740.000	663.000	
7	21/10 24	59	3.360.000	628.000	
8	22/10 24	60	3.415.000	576.500	
9	23/10 24	65	3.530.000	437.000	
10	24/10 24	74	3.875.000	489.000	
11	25/10 24	72	4.030.000	786.500	
»	»	drræbes Dyret.			

Efter Blodundersøgelsen den 1. Dag udtømmes gennem Ørerandvene ialt 50 cm³ Blod (svarer til ca. $^1/_3$ af Dyrets samlede Blodmængde).

8., 9. og 10. Forsøgsdag er Koagulationstendensen øget.

Blodpladetælling efter Centrifugeringsmetoden.

Sektion:

Milt: Vægt 0,35 gram. Organerne naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., h. Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinien 4,7 cm. fra distale Tibiaende.

Knoglemarven: normal Fedtmængde ($^1/_5$).

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 257—1—40—18—3W—47F—4D = 370; $\frac{370}{5}$ = 74,0; 74;

Corp. vertebr.: 287—2—67—19—3W—47F—10D = 435; $\frac{435}{5}$ = 87,0; 87.

Resumé:

Hos 6 halvvoksne og voksne Kaniner har jeg daglig fjernet ca. 18 % af den samlede Blodmængde. Herved er der i Løbet af 10 Dage blevet bragt en svær Anæmi til Udvikling. Strakte Forsøgene sig over lang Tid, kunde Erythrocyterne vise Tendens til at stige i Antal og Hæmoglobinprocenten tiltage.

De Forandringer, Blodpladernes Antal undergik, var meget vekslende baade fra Dag til Dag og indenfor de forskellige Forsøg. Ved Aareladningens Begyndelse fandt der ret konstant et jævnt og temmelig stærkt Fald Sted. Under Anæmiseringens videre Forløb viste Blodpladetallet bratte Svingninger, under hvilke de normale Værdier ret ofte for en enkelt Dag blev naaet. Naar Blodpladerne paa denne

Maade vekslede i Tal, saa jeg det dels som Udtryk for, at Organismen søgte at kompensere det stedfundne Tab, dels at Regenerationen af og til antog store Dimensioner.

I 1.—6. har jeg aldrig set hverken en primær eller sekundær Blodpladestigning over de Værdier, der blev fundet ved Forsøgets Begyndelse.

I 2 Forsøg (7.—8.), hvor en lille Blodmængde daglig var blevet fjernet (ca. 2—3 %), gjorde lidt vekslende Forhold sig gældende. I 7. indtraf saaledes en betydelig sekundær Stigning. Blodpladetallet var oprindelig 1,1 Mill.; den 11. Dag naaede Stigningen sit Maximum, 1,8 Mill. Ved Gentagelse af Experimentet (8.) faldt Blodpladetallet primært fra 780.000 til et Minimum (348.000) den 10. Dag.

I Tilslutning til een meget stor Blodudtømmelse (ca. $^1/_3$ af Dyrets totale Blodmængde) (9.) gav der sig straks et Fald tilkende baade af Erythrocyter og Blodplader. Normale Værdier naaedes derpaa ved jævn Stigning: 4.—5. Dag for Blodpladernes, 10.—11. Dag for Erythrocyternes Vedkommende. Sekundær Stigning over det normale fandt ikke Sted, derimod aftog Blodpladernes Antal paany for 9. Dag at naa endnu lavere Værdier end i umiddelbar Tilslutning til Aareladningen.

Megakaryocyttallet i Femurs Marv har holdt sig indenfor de normale Grænser, hvadenten Forsøgene varede 5 eller op til 33 Dage. Der lod sig aldrig se Tegn til den af andre beskrevne, stærke Megakaryocytforøgelse. I 6. fandt jeg et ret lavt Tal (53), men da lignende er fundet hos normale Kaniner, kan der ikke tillægges dette Fund nogen afgørende Betydning. Selv i de Tilfælde, hvor Blodpladerne, det sidste Døgn før Dyret blev dræbt, var steget meget brat (med $^2/_3$ eller det dobbelte), laa Megakaryocyttallet stadig indenfor de normale Grænser. Megakaryocyterne synes ikke at tage Del i den almindelige Hyperplasi, som Knoglemarven bliver Sæde for efter den daglige Aareladning. Nogle Megakaryocyter er, ligesom de andre Marvceller, ganske vist gaaet over i Cirkulationen og har unddraget sig Tælling; absolut vil dette imidlertid kun repræsentere smaa Tal. I denne Sammenhæng har dette Forhold imidlertid ringe Interesse, idet tidligere Undersøgere udelukkende har taget Hensyn til Megakaryocyternes Antal i Knoglemarven.

Ved Differentialtælling var de Wrightske Figurers Antal gennemsnitlig (i 1.-6.) 0,6 (pr. 100 Synsfelter) mod 1,9 normalt; »Fagocytosebillederne« var ganske let formindskede, 2,0, mod 2,2 normalt.

Den Fedtmængde, som rød Knoglemarv i Femur hos Kaniner normalt indeholder, var blevet kendelig reduceret. I de Tilfælde, hvor Anæmien havde strakt sig over lang Tid, lod der sig kun se meget sparsomme Rester deraf. Disse Forandringer kunde dog ikke med Sikkerhed fastslaas ved makroskopisk Bedømmelse.

Ved Maaling af Overgangsliniens Beliggenhed har der ikke i noget Tilfælde været Tegn til distal Propagation af den cellerige Marv. Det fremgaar heraf, hvor langvarig Paavirkning og voldsomme Forandringer Knoglemarvssystemet skal undergaa, før hyperplastisk Marv propagerer distalt for de normale Grænser (sml. Saponinforsøgene, samt Forholdene bl. a. ved Blodsygdomme hos Mennesker).

Ved Undersøgelse af de spongiøse Knoglers Marv har jeg i 6. fundet let nedsatte Megakaryocyttal (51), i 5. normalt Tal (87).

Allerede efter 5 Dages Aareladning optraadte »nøgne« Megakaryocyter i Lungekapillærerne. Ved Forsøg af længere Varighed lod der sig tillige i de større Lungekars Grene se fuldt granulerede, store Megakaryocyter. Af disse var dog nogle ofte i Henfald. Det har aldrig været mig muligt i det cirkulerende Blod at paavise hverken regelmæssigt formede Megakaryocyter eller Wrightske Figurer. Ogsaa i Organer saasom Milt og Lymfeglandler har Megakaryocyter ladet sig se.

Det skal endvidere tilføjes, at Lipæmi optraadte fra 5. Forsøgsdag, samt at der meget hurtigt indtraadte store Vanskeligheder med sikker Stabilisering af Blodet.

Det fremgaar af det tidligere anførte, at jeg efter at have fulgt de af *Bunting* og *Ogata* benyttede Fremgangsmaader og efter at have anvendt forbedrede Undersøgelsesmetoder har opnaaet Resultater, der fuldstændig staar i Modstrid med tidligere beskrevne.

Aarsagen til, at andre Undersøgere har opnaaet Resultater, der er væsensforskellige fra mine, mener jeg skyldes to Faktorer. Paa den ene Side undergaar Blodpladernes Tendens til Henfald Svingninger, samtidig med at den anæmiske Tilstand kommer til Udvik-

ling; paa den anden Side har de tidligere benyttede Metoder til Tælling af Megakaryocyter og Blodplader været meget mangelfulde.

Idet Megakaryocyterne saavel efter mine korte som lange Aareladningsforsøg forefandtes i normal Mængde, og Blodpladernes Antal altid laa $^1/_3$—½ under Begyndelsesværdierne, maa dette ses som Bevis for, at der ikke findes nogen talmæssig Overensstemmelse mellem de to omhandlede Elementer. Der synes derfor ikke at kunne være Tale om genetisk Samhørighed.

Naar en vis Blodmængde jævnligt fjernes, saaledes som det er sket ved de ovennævnte Forsøg, maatte man gaa ud fra, at samtlige Arter af Blodlegeme-Stamceller herved blev interesseret i at kompensere det stedfundne Tab. Dette har altsaa ikke været Tilfældet med Megakaryocyterne.

B. *Forsøg med Aareladning og Geninjektion af det defibrinerede Blod.*

Tilstræbes det at bringe Forholdene vedrørende Megakaryocyters blodpladedannende Funktion til at træde tydeligt frem, vil den i forrige Afsnit beskrevne Forsøgsanordning ikke kunne gøre Fyldest.

Tidligere Undersøgere har, muligvis i Erkendelse heraf, anstillet en særlig Art Aareladningsforsøg for elektivt at ramme Megakaryocyt-Blodpladesystemet. Ved Aareladning og Geninjektion af de røde og hvide Blodlegemer samt Serum har man søgt at fremkalde en isoleret Hyperplasi af Megakaryocyterne, spec. de Wrightske Figurer.

Denne Forsøgsanordning har jeg prøvet og skal nedenfor meddele Resultaterne deraf.

Tillige har jeg forsøgt en anden Fremgangsmaade, som jeg haabede muligvis vilde være mere fyldestgørende: Aareladning og Geninjektion af Erythrocyterne og Leukocyterne.

Af de nævnte to Metoder forekom den sidste mig paa Forhaand at maatte være bedst egnet til Formaalet; den har imidlertid — ligesom den førstnævnte — vist sig langtfra at komme Idealet saa nær som ønskeligt var.

Tidligere Undersøgelser.

Bizzozero offentliggjorde i 1891 to Experimenter med Aareladning og intravenøs Geninjektion af defibrineret Blod paa Hunde. Tanken om at gennemføre Forsøg af denne Art havde beskæftiget ham siden

1884. Blodudtømmelserne blev foretaget henholdsvis 9 og 8 Gange efter hinanden paa Forsøgets første Dag; hver Gang udtømtes store Mængder. Blodpladernes Antal reduceredes straks til et Minimum for efter 5—6 Dages Forløb atter at naa de oprindelige Værdier. Bortset fra, at Dyrene fik blodige Diarrhoer, taalte de Indgrebene ganske godt.

Duke (1911) kunde paa en Hund næsten fuldstændig befri Blodet for Blodplader. I 2 Seancer med 4 Timers Mellemrum blev 35 % + 44 % af Dyrets samlede Blodmængde udtømt (i flere Tempi), defibrineret og geninjiceret. Der viste sig herved en tydelig Tendens til Blødning. Blodpladeregenerationen forløb meget hurtigt. *Duke* formodede, at Blodpladernes Levetid højst var faa Dage.

Firket (1922) formaaede ikke med Dukes Teknik at fremkalde en Blodpladeformindskelse hos Kaniner svarende til den hos Hundene fundne. Fremgangsmaaden viste sig at være farlig, idet Dyrene den første halve Time efter Injektionen kom i en shockagtig Tilstand, hvorunder Blodpladerne manglede i Cirkulationen. For at bøde herpaa blev Aareladningerne fordelt over 24 Timer, ligesom Blodpladerne først blev talt een Time efter Injektionens Ophør.

Det fremgaar af de to af ham offentliggjorte Forsøg, at der paa Kaniner (af Vægten 3200 og 2850 gram) i 5 Tempi er blevet fjernet henholdsvis 120 og 208 cm³ Blod. Herved reduceredes Blodpladernes Antal fra ca. 700.000 og ca. 600.000 til ca. 150.000 og ca. 250.000. Paa den tredie Dag naaedes normale Værdier, som dog senere blev overskredet.

Erythrocyternes Antal var i begge Tilfælde reduceret til ½ og ⅔ af det oprindelige. Dyrene blev dræbt henholdsvis 6. og 4. Forsøgsdag. Blodpladeregenerationen viste sig efter det ovenforbeskrevne Indgreb at forløbe hurtigt (i Løbet af 3 Dage). Svarende hertil fandt *Firket* talrige granulerede Megakaryocyter i Udstrygningspræparater af Knoglemarven, uden at det samtidig lod sig afgøre, om det totale Antal oversteg normale Værdier. Jævnsides med den stærke Tiltagen af Blodpladernes Antal under Regenerationen var de 65 % af Megakaryocyter i Knoglemarven azurofilt granulerede.

I Forbigaaende skal det nævnes, at ogsaa *Marchesini* (1922) ved sine Experimenter har arbejdet med defibrineret Blod.

Perroncito (1920), (der som tidligere anført, er Modstander af

Wrights Teori), benyttede en modificeret Saccerdotti-Teknik (angivet 1901). Defibrineret Blod fra 2 Katte blev injiceret paa et tredie Dyr af samme Kuld, efter at dette forud havde mistet en stor Blodmængde. Om muligt geninjiceredes senere det fra selve Forsøgsdyret fjernede Blod.

Blodpladernes Antal i Organismen lod sig herved reducere stærkt. Allerede efter 4 Timers Forløb blev imidlertid de normale Værdier overskredet samtidig med, at der optraadte Tendens til Agglutination. Dyrene blev dræbt fra 4—24 Timer efter Indgrebet. Denne Fremgangsmaade anser *Perroncito* for at være den eneste sikre til Belysning af Spørgsmaalet om, hvorvidt Megakaryocyter besidder Evne til at danne Blodplader. Det lod sig ikke gøre at paavise Forandringer, der fjernede sig betydeligt fra normale Forhold. Hans Forsøg har derfor ikke kunnet yde noget Argument til Gunst for Wrights Teori.

Som det ses, er forskellige Undersøgere ved Benyttelse af næsten samme Teknik kommet til divergerende Resultater.

Egne Undersøgelser.

Ved Benyttelse af det ovenomtalte Forsøgs-Princip til Reduktion af de cirkulerende Blodpladers Antal har jeg prøvet at paavirke Megakaryocyternes Funktionsgrad og dermed muligvis ogsaa forøge disse Cellers Tal. Da der imidlertid ved Forsøg af denne Art viste sig at være en Del Vanskeligheder, som jeg ved Variationer i Fremgangsmaaden maatte søge at komme udenom, har Udførelsen af Experimenterne været vekslende.

Til hvert Forsøg er kun blevet benyttet eet Dyr. Den samme Kanins Blod blev udtømt og defibrineret, for atter at blive sprøjtet ind i Cirkulationen.

Aareladning og Geninjektion er blevet foretaget enten med større eller mindre Blodmængder. I nogle Tilfælde i flere Seancer, i andre kontinuerligt; paa den sidstnævnte Maade lod jeg Blodudtømmelse og Geninjektion veksle uden Ophold. Jeg har herved forsøgt at »gennemskylle« Organismen med Kaninens eget, defibrinerede Blod, for paa denne Maade, saavidt det var muligt, at fjerne de fleste Blodplader i Cirkulationen.

Forsøgsdyrene blev i Rygleje udspændt paa Kaninbord.

I a. carotis paa den ene Side og v. jug. paa den modsatte Side blev indført paraffinerede Glaskanyler, der var forbundet med tynde, korte Gummislanger, lukket af en Klemme og fyldt med Ringers Væske.

Den Mængde Blod, der pr. Gang blev udtømt gennem Arterien, har været lidt vekslende, dog aldrig over $^1/_3$ af Dyrets samlede Blodmængde (beregnet til 5 % af Legemsvægten).

Efter Defibrinering (ved Rystning med Glaskugler) frafiltreredes Fibrintraadene gennem dobbelt Lag Gaze, og efter ca. 20 Minutters Henstand blev Blodet langsomt injiceret i v. jug. med stor Recordsprøjte.

Først anstillede jeg til Orientering Forsøgene 1, 2 og 3. Det lykkedes ikke for mig at holde Dyrene i Live. Aarsagen var tildels rent tekniske Ufuldkommenheder. Tillige viste det sig, at Kaninerne taalte Indgrebet daarligere og daarligere, jo længere man kom hen i Forsøget.

Derpaa anstillede jeg følgende Forsøg:

4. Forsøg.

Voksen Kat, ♂, Vægt 3100 gram.

Ialt udtømmes og defibrineres 61,7 cm³ Blod, i een Seance.

10 Minutter efter Injektionens Ophør dør Dyret pludselig.

5. Forsøg.

Voksen Kat, ♂, Vægt 3900 gram.

Ialt udtømmes og geninjiceres 66,1 cm³ Blod i een Seance.

½ Time efter Injektionens Ophør dør Dyret pludselig.

6. Forsøg.

Hvid Kanin, ♀, Vægt 2520 gram.

Ialt udtømmes og geninjiceres 27,78 % Blod.

Dyret faar lige ved Forsøgets Slutning hivende Respiration, bliver cyanotisk. Efter et Par Krampetrækninger dør det pludselig.

7. Forsøg.

Hvid Kanin, ♂, Vægt 2200 gram.

Ialt udtømmes og geninjiceres 33 % af Dyrets samlede Blodmængde. Dyret dør pludseligt straks efter.

8. Forsøg.

Sølvkanin, ♂, Vægt 1730 gram.

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	12/12 23	68	3.870.000	(588.000)
»	»	57		
»	»	51		
»	»	60		
»	»	63		
»	»		3.310.000	(264.600)
2	13/12 23	40	2.475.000	(238.000)
3	14/12 23	39	2.400.000	(644.000)
4	15/12 23	36	2.460.000	(951.600)
6	17/12 23	51	3.420.000	(1.505.000)
8	19/12 23	58	3.225.000	(315.600)
10	21/12 23	63	3.330.000	(660.600)
13	24/12 23	79	4.225.000	(872.400)
16	27/12 23	71	4.040.000	(1.544.200)
20	31/12 23	74	4.595.000	(1.168.000)
»	»	dræbes Dyret.		

Efter den første Blodundersøgelse udtømmes og geninjiceres i 2 Seancer ialt 25 cm³ defibrineret Blod (svarende til 28,7 % af den totale Blodmængde).

Blodpladetælling efter den modificerede Thomsen-Mikrometode. Under Forsøget ses ingen Lipæmi.

Sektion:

Milt: Vægt 1,4 gram. Samtlige Organer naturlige.

H. Femurs max. Lgd. 8,8 cm., Tibias max. Lgd. 9,6 cm. Overgangslinien 4,8 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Lunge: meget faa, »nøgne« Megakaryocyter (1 pr. 3 mm²).

Øvrige Organer: ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtceller sparsomt tilstede ($^1/_{10}$). Blodplader ses i rigelig Mængde i alle Karrene.

Megakaryocytdifferentialtælling:

h. Femur: 326—5—134—22—2W—17F—5D—1K = 512; $\frac{512}{5}$ = 102,4; 102;

Corp. vertebr.: 286—0—53—17—7W—10F—2D = 375; $\frac{375}{5}$ = 75,0; 75.

9. Forsøg.

Kanin, langøret, gulbrun, ♂, Vægt 2885 gram.

Forsøgs-dag	Dato	Kl.	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Aareladning-Geninjection af
1	12/2 24	2^{30}	83	5.575.000	862.000	5,5 cm³ Blod
	—	4^{50}	83	5.030.000	618.000	

Forsøgs-dag	Dato	Kl.	Sahli	Erythro-cyter	Blodplader	Aareladning-Geninjection af
2	13/2 24	10^{15}	74	4.215.000	441.500	25,5 cm³ Blod
	—	1^{15}	62	4.115.000	330.000	
3	14/2 24	10^{30}	62	4.130.000	270.500	8,0 —
	—	12^{30}	66	3.475.000	268.500	
4	15/2 24	11^{00}	46	2.625.000	209.000	13,0 —
	—	1^{55}	40	2.380.000	213.000	
5	16/2 24	11^{00}	35	2.080.000	488.500	14,2 —
	—	12^{55}	33	1.360.000	436.000	
6	17/2 24	3^{30}	33	2.190.000	507.000	21,1 —
	—	5^{30}	29	1.655.000	573.500	
7	18/2 24	3^{50}	27	1.720.000	218.500	
8	19/2 24	1^{16}	25	1.570.000	345.000	
9	20/2 24	1^{10}	29	1.680.000	347.000	
10	21/2 24	2^{35}	33	1.845.000	690.500	
11	22/2 24	3^{30}	38	1.660.000	ca. 500.000	
»	»	4^{45} dræbes Dyret.				

Blodprøverne tages før Aareladningen samt 15 Minutter efter Geninjektionen.

Blodpladetælling: Centrifugeringsmetoden.

Under Forsøget ses ingen Lipæmi.

13/2 24: Dyret bliver meget sløjt i Tilslutning til Injektionen; retter sig dog noget efter et Par Timers Forløb.

15/2 24: Injektionen taales betydelig bedre:

16/2 24: Dyret bliver meget sløjt efter Injektionen.

17/2 24: Koagulationstendensen øget; Dyret reagerer ikke mere paa Injektionerne.

Der er ialt i 6 Seancer med 1 Døgns Mellemrum blevet udtømt og defibrineret ialt 87,3 cm³ Blod, 5: ca. 62 % af den samlede Blodmængde.

20/2 24: Stor Koagulationstendens.

22/2 24: Ganske uovervindelige Koagulationsvanskeligheder.

Sektion:

Intet pathologisk i Organerne; ingen Infarcter. Milt: Vægt 0,8 gram.

H. Femurs max. Lgd. 10,1 cm., Tibias max. Lgd. 11,1 cm. Overgangslinien 5 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

I Organerne findes ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtmængden lidt svingende, alt i alt normal ($^1/_5$) — ($^1/_2$).

Megakaryocytdifferentialtælling:

h. Femur: 165—3—42—22—1W—1F—2D = 236; $\frac{236}{5}$ = 47,2; 47.

Corp. vertebr.: 146—0—42—8—5W = 201; $\frac{201}{5}$ = 40,2; 40.

Resumé:

Kaniner taalte meget daarligt Aareladning med paafølgende Geninjektion af det samme Dyrs defibrinerede Blod.

Kun i 2 af 9 Tilfælde har det været mig muligt at bringe Forsøgskaninerne levende igennem det første Indgreb.

Min oprindelige Plan om i Løbet af kort Tid ved Defibrinering at formindske Blodpladernes Antal stærkt i det cirkulerende Blod, har jeg maattet opgive. Det har undret mig, at de tidligere omtalte Undersøgere har kunnet gennemføre Experimenter af denne Art. Muligvis er den benyttede Dyreart delvis Aarsag hertil.

I de to Tilfælde, hvor Kaninerne overlevede Indgrebene, har jeg set et primært Blodpladefald og herefter i et Par Dage lave Værdier.

I 8. steg senere Blodpladerne, saavidt det lod sig bedømme, over det dobbelte af Begyndelsesværdierne. I 9., hvor jeg til en vis Grad tilsigtede at eftergøre 8., holdt Blodpladetallene sig stadig subnormalt.

Det forekommer mig tvivlsomt, om det primære Fald alene beror paa den ved Defibrinering fremkaldte Blodpladedestruktion, idet den iagttagne Reduktion i Blodpladetallet var større, end hvad man kunde vente efter det Antal Blodplader, der var blevet fjernet. Den shockagtige Tilstand, Kaninerne syntes at komme i ved Injektionen af Serum, samt røde og hvide Blodlegemer, bærer sikkert Skylden herfor.

Dyrene synes efter nogle Dages Forløb bedre at taale de daglige Injektioner af defibrineret Blod, dersom man de første Dage kun har injiceret smaa Mængder. Shocket staar derfor antagelig i Forbindelse med de Forandringer, som Blodvæskens Sammensætning undergaar ved Defibrineringen. For ikke at faa Virkningen af den isolerede Blodpladereduktion kombineret med almindelige Aareladningssymptomer, fandt jeg det imidlertid nødvendigt, at der gik saa kort Tid som muligt mellem Blodudtømmelsen og Geninjektionen (højst 20 Minutter).

Det baade i 8. og 9. iagttagne Erythrocytfald beroede sikkert paa det uundgaaelige Tab under Defibrinering og Filtrering.

I 9. holdt Erythrocyterne sig forbavsende længe lavt trods Injektionernes Ophør.

Megakaryocyternes Antal var i 8. normale (102), i 9. subnor-

male (47). Differentialtællingen viste intet særligt. I Lungekapillærerne fandt jeg enkelte »nøgne« Megakaryocyter.

De nævnte Experimenter var tænkt som orienterende Forsøg.

Da imidlertid ingen af dem gav ensartede Resultater, da Forsøgsanordningen var meget omstændelig, og da mange tildels ukontrollerbare Faktorer maatte formodes at kunne gøre sin Indflydelse gældende, følte jeg mig ikke opfordret til ad denne Vej nøjere at undersøge Megakaryocyternes blodpladedannende Evne.

Paa Resultater, vundet efter de ovenforbeskrevne Maader, vil man ikke kunne træffe sikker Afgørelse med Hensyn til Megakaryocyternes Forhold til Blodpladerne. I det Tilfælde (9.), hvor det største Blodpladetab havde fundet Sted, var Megakaryocyttallet meget lavt, hvilket altsaa nærmest taler imod en genetisk Samhørighed.

C. *Forsøg med Aareladning og Geninjektion af Erythrocyterne og Leukocyterne.*

1. Forsøg.

Kanin, harefarvet, ♂, Vægt 2710 gram.

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	22/3 24	100	4.915.000	745.000
2	23/3 24	96	5.730.000	785.000
3	24/3 24	95	4.850.000	1.015.500
4	25/3 24	73	4.125.000	1.109.500
5	26/3 24	84	4.130.000	1.126.500
6	27/3 24	81	4.790.000	583.500
7	28/3 24	78	4.920.000	426.000
8	29/2 24	84	3.875.000	936.000
9	30/3 24	67	4.745.000	538.000
10	31/3 24	84	5.195.000	671.000
11	1/4 24	71	4.650.000	540.500
12	2/4 24	64	4.205.000	817.000
13	3/4 24	72	4.180.000	782.000
14	4/4 24	68	5.120.000	836.500
»	»	dræbes Dyret.		

Blodpladetælling efter Centrifugeringsmetoden.

Under Forsøget ses ingen Lipæmi.

Daglig injiceres de i Ringers Væske vaskede Erythrocyter og Leukocyter.

stammende fra 2 Blodprøver (à 1 cm³). Det extra Blodtab er lidt svingende, men som Regel ret ringe. Dyret taaler Injektionerne godt.

3/4 24: stor Koagulationstendens.

Sektion:

Intet pathologisk.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinien 5 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Organerne naturlige, ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtholdigheden normal. (1/6).

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 261—0—24—17—2W—3F—1K = 308; $\frac{308}{5}$ = 61,6; 62

Corp. vertebr.: 188—3—46—19—1W—8F—1D = 266; $\frac{266}{5}$ = 53,2; 53.

2. Forsøg.

Bæverkanin, ♀, Vægt 2860 gram.

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	14/10 24	72	5.185.000	738.500
2	15/10 24	79	5.065.000	804.000
3	16/10 24	79	5.070.000	812.500
4	17/10 24	76	5.150.000	835.500
5	18/10 24	76	5.080.000	946.000
6	19/10 24	72	4.700.000	784.000
7	20/10 24	79	4.510.000	724.000
8	21/10 24	63	4.055.000	724.000
»	»	dræbes Dyret.		

Blodpladetælling: Centrifugeringsmetoden.

Under Forsøget ses ingen Lipæmi.

Daglig injiceres de i Ringers Væske vaskede Erythrocyter og Leukocyter stammende fra 3 Blodprøver (à 1 cm³).

Sektion:

Intet pathologisk. Milt: Vægt 2,3 gram.

H. Femurs max. Lgd. 9,6 cm., Tibias max. Lgd. 10,6 cm. Overgangslinien 4,0 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Organerne naturlige. Ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtholdigheden normal (1/6).

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 276—9—81—36—4W—74F—6D = 486; $\frac{486}{5}$ = 97,2; 97.

Corp. vertebr.: 354—6—87—26—16W—51F—3D—1K = 544; $\frac{544}{5}$ = 108,8; 109.

Resumé:

I det foregaaende er blevet omtalt mine Forsøg paa at fremkalde en saa vidt mulig isoleret Reaktion fra Megakaryocyt-Blodpladesystemets Side. Ved daglig at fjerne de til et Par cm^3 Blod svarende Blodplader, haabede jeg at kunne iagttage Forandringer i Megakaryocyternes Funktion og Antal. Naar jeg havde valgt kun at arbejde med smaa Blodmængder, skyldtes det Haabet om at kunne fremkalde en lignende Blodpladestigning som i 7. Forsøg med simpel Aareladning (p. 197).

I begge Forsøgene fremkaldte jeg en primær Blodpladestigning, hvilket aldrig er lykkedes mig ad andre Veje. Efter at Maximum i 1. Forsøg var naaet (5. Dag), fulgte et brat Fald til Værdier, mindre end det halve (6.—7. Dag). Blodpladetallet steg dog hurtigt til det normale.

Ved Gentagelse af Forsøget (2.) saas straks ingen Blodpladestigning, men efter nogle Dages Forløb gav en mindre Stigning sig tilkende.

Megakaryocyttallene var normale: 62 (1.) og 97.2 (2.); i 1. laa de altsaa nær den laveste normale Grænse. Erythrocyterne viste kun mindre Svingninger.

Naar jeg kun har anstillet to Experimenter af den beskrevne Art, skyldes dette flere Grunde.

Det har ved tidligere Forsøg vist sig, at Blodpladedifferenser paa et Par Hundrede ikke har svaret til lignende Variationer i Megakaryocyttallet. Blodpladernes Antal kan saaledes være stærkt svingende, uden at Megakaryocyttallet bevæger sig udover de normale Grænser. Selv paa et Tidspunkt, da Blodpladerne var i brat og meget stærk Stigning i tidligere Forsøg (simpel Aareladning 9.), lod der sig ikke paavise Ændringer i Megakaryocyternes Antal udover det normale. Der maa som Følge heraf kræves store og tydelige Udsving for at tillade én at træffe sikker Afgørelse med Hensyn til en mulig genetisk Samhørighed.

Selv om jeg ved fornyede Forsøg kunde have Mulighed for at gribe ind, naar Blodpladerne var jævnt stigende, vilde der alligevel ikke være stort Haab om at kunne paavise Ændringer i Knoglemarvens Megakaryocytholdighed, der forløb synkront hermed.

Daglig Fjernelse af Blodplader (samt Plasma) svarende til et Par cm³ Blod kan som Følge af det ovenanførte ikke anses for egnet til Undersøgelser over Megakaryocyt-Blodplade-Forholdet.

FORSØG MED PYRODIN.

Tidligere Undersøgere.

Saavel Wright-Teoriens Tilhængere som dens Modstandere har benyttet Pyrodin til at bekræfte Rigtigheden af de forskellige Opfattelser, der er blevet gjort gældende med Hensyn til Hypothesen.

Omend de Slutninger, man paa Grundlag af Pyrodinforsøg har draget, paa mange Punkter er stærkt modstridende, synes alle at være enige om, at Stoffet, foruden at øve en toxisk Virkning paa de røde Blodlegemer, besidder Evnen til meget hurtigt at kunne fremkalde en stærk Blodpladeforøgelse. Indflydelsen paa Blodpladerne angives at være ens, hvadenten Pyrodin injiceres subcutant eller intravenøst. Virkningerne skal efter en enkelt Dosis tabe sig allerede efter nogle Timer.

Undersøgelser over Blodpladetallets Svingninger efter Pyrodininjektioner er foretaget af *Cesaris-Demel*, *Ferrata* og *Negreiros-Rinaldi*, *Foti*, *Pianese* og *Perroncito*.

De to sidstnævnte er direkte Modstandere af Wrights Teori. *Foti* mener, at Blodpladerne har sin Oprindelse fra Erythrocyter, og de to førstnævnte er Tilhængere af Wrights Hypothese.

Jeg skal i det følgende omtale de Forsøg og de Resultater, ovennævnte Undersøgere er kommet til.

Ferrata og *Negreiros-Rinaldi* (1915) ser efter Injektion bl. a. paa Kaniner af relativt høje Doser (fra 3—10 cm³ af 1 %'s vandig Pyrodinopløsning) følgende Forandringer:

I det cirkulerende Blod forøges sædvanligvis Blodpladernes Antal tydeligt, omend Graden heraf kan vise stor Uensartethed, selv hos Dyr

af samme Kuld. Den samtidig hermed optrædende Gruppering af blodpladelignende Elementer er blevet antaget dels for differentieret Megakaryocytprotoplasma dels for Hobe af cirkulerende Blodplader.

I Knoglemarven findes næsten altid en tydelig Overproduktion baade af granulerede og ugranulerede Megakaryocyter samt af Wrightske Figurer. Differentiationen af Protoplasmaet til »Blodplader« kan i disse sidste naa forskellige Grader. De nævnte Forandringer lader sig paavise selv faa Timer efter Injektionen af en mindre Dosis.

Cesaris-Demel (1914, 1919) undersøger i Knoglemarv bl. a. Virkningen af Pyrodin og beskriver indgaaende de Wrightske Figurer.

Foti (1913) iagttager, hvorledes Blodpladernes Antal efter Pyrodininjektion i Løbet af meget kort Tid bliver stærkt forøget. Efter 1—2 Timers Forløb tiltager tillige Blodpladernes Volumen stærkt samtidig med, at Erythrocyterne i tilsvarende Grad formindskes i Antal.

Pianese (1920) benytter til sine Forsøg med Pyrodin kun faa Uger gamle Kattekillinger. Han kan ved Blodpladetælling (bl. a. efter Aynauds Metode) paavise en Forøgelse af Blodpladernes Antal. Ved Undersøgelse af Tibia før og efter Injektionen ses derimod ingen Forskel i Megakaryocyternes Antal og Struktur.

Disse Fund taler efter *Pianeses* Mening imod Megakaryocyt-Blodplade-Parallelismen.

Perroncito (1920—1922) underkaster i tre forskellige Arbejder Pyrodins Virkning paa Blodpladerne en indgaaende Analyse.

Han giver Pyrodin i saadanne Mængder, at Blodpladeforøgelsen naas i den kortest mulige Tid; Dyrene dræbes fra ¾—10 Timer efter Injektionen.

De Wrightske Figurer er ikke tydeligt forøgede i Udstrygningspræparater. Blodpladerne viser Tendens til Agglutination og optræder i forskellige Former.

Senere har *Perroncito* anstillet følgende kombinerede Forsøg:

Efter at Dyrenes Blodpladetal havde ladet sig reducere stærkt (ved gentagne Aareladninger, efterfulgt af Geninjektion af defibrineret Blod fra andre Kaniner), injiceredes Pyrodin intravenøst (6 ctgr. pr. kg.), og Forsøgsdyrene blev dræbt efter ¾—2 Timers Forløb.

Nøjagtige Tællemetoder anser *Perroncito* for overflødige, da man alligevel kun kan regne med meget betydelige Forskelle (!).

Der har ikke ladet sig paavise nogen Blodpladeforøgelse. Pyrodindvirkningen maa under normale Forhold antages at bero paa Forandringer i det cirkulerende Blod i Stedet for i de hæmatopoietiske Organer. *Perroncito* har fremdeles vist, hvorledes Blodpladetallet efter Pyrodintilsætning in vitro undergaar de samme Svingninger, som man ser in vivo. Han slutter heraf, at Blodpladerne er i Stand til at formere sig.

Tekniken ved mine Forsøg:

Til alle Forsøgene er benyttet Kahlbaums Præparat. Som Følge af Pyrodins Tungtopløselighed lod det sig kun benytte i 1 %'s Opløsning (i Ringers Væske). For at undgaa mulige Ændringer i denne ved Henstand fremstillede jeg altid Pyrodinopløsningen lige før Indsprøjtningen.

Dosis har i alle Tilfælde været 6 ctgr. pr. kg. Injektionerne blev foretaget ret hurtigt og under eet, i 1.—5. Forsøg intravenøst, i 6. Forsøg subcutant.

De til Blodundersøgelsen anvendte Prøver er altid blevet taget med paraffineret Kanyle fra Halsvenerne.

Blodpladetælling er i 1.—5. Forsøg foretaget efter Centrifugeringsmetoden; i 6. Forsøg efter den modificerede Thomsen-Mikrometode.

1. Forsøg.

Bæverkanin, ♂, Vægt 1550 gram.

13/5 24 Kl. 1^{55} Sahli 74, Erythrocyter 4.095.000. Blodplader 514.000.

— Kl. 2^{10}—^{34} Intravenøs Injektion af 93 mgr. Pyrodin.

— ¾ Time efter Injektionens Ophør:

Kl. 2^{59} Sahli 72, Erythrocyter 3.555.000, Blodplader 513.000.

Dyret dræbes snarest muligt herefter.

Sektion:

Organerne uden makroskopiske Forandringer. Milt: Vægt 1,22 gram.

H. Femurs max. Lgd. 9,2 cm., Tibias max. Lgd. 10 cm. Overgangslinien 4,6 cm. fra distale Tibiaende.

Knoglemarven i Femur er stærkt hyperæmisk; uden synlige Blødninger.

Mikroskopi:

Organerne naturlige; ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtholdigheden normal ($^1/_5$). Karrene stærkt blodfyldte. Der ses adskillige Megakaryocyter intravaskulært beliggende. I Karrene ses mange Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 304—19—47—40—2W—2F—5D = 419; $\frac{419}{5}$ = 83,8; 84;

Corp. vertebr.: 265—2—44—33—12W—4F—5D—1K = 366; $\frac{366}{5}$ = 73,2; 73.

2. Forsøg.

Bæverkanin, ♂, Vægt 1530 gram.

15/5 24 Kl.11^{30} Sahli 87, Erythrocyter 5.310.000, Blodplader 461.500

— Kl. 12^{25-30} Intravenøs Injektion af 92 mgr. Pyrodin.

3 Timer efter Injektionens Ophør:

— Kl. 3^{30} Sahli 80, Erythrocyter 5.020.000, Blodplader 535.000.

Dyret dræbes snarest muligt herefter.

Sektion:

Organerne uden makroskopiske Forandringer. Milt: sorterød, Vægt 1,02 gram.

H. Femurs max. Lgd. 9,5 cm., Tibias max. Lgd. 10,2 cm. Overgangslinien 5 cm. fra distale Tibiaende.

Knoglemarven: temmelig blodholdig.

Mikroskopi:

Organerne naturlige.

Knoglemarven: Fedtholdigheden normal ($^1/_5$). Der ses nogle Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 324—16—73—14—18W—3F—2D—1K = 451; $\frac{451}{5}$ = 90,2; 90;

Corp. vertebr.: 225—0—48—10—10W—2F—2D—1K = 298; $\frac{298}{5}$ = 59,6; 60.

3. Forsøg.

Kanin, (graablaa), ♀, Vægt 2015 gram.

27/5 24 Kl. 2^{00} Sahli 80, Erythrocyter 5.170.000, Blodplader 696.500.

— Kl. 2^{25} Intravenøs Injektion af 121 mgr. Pyrodin.

— Kl. 3^{25} Blodplader 480.000

— Kl. 4^{25} Blodplader 387.500

3 Timer efter Injektionens Ophør:

— Kl. 5^{25} Sahli 74, Erythrocyter 4.575.000, Blodplader 668.500.

— Plasma er let gulbrunt.

— Dyret dræbes snarest muligt herefter.

Sektion:

Organerne naturlige uden makroskopiske Forandringer. Milt: naturlig Farve, Vægt 0,925 gram.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinien 4,7 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Lunge: I Kapillærerne »nøgne« Megakaryocyter (1 pr. 1,29 mm²); ingen Blodplader. Øvrige Organer naturlige; ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtholdigheden naturlig ($^1/_5$). Ingen Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 350—0—112—64—5W—93F—6D—1K = 631; $\frac{631}{5}$ = 126,2; 126;

Corp. vertebr.: 361—5—73—27—14W—92F—2D—1K = 575; $\frac{575}{5}$ = 115; 115.

4. Forsøg.

Bæverkanin, ♀, Vægt 1770 gram.

13/5 24 Kl. $8^{\underline{50}}$ Sahli 71, Erythrocyter 4.640.000, Blodplader 494.000.

— Kl. $10^{\underline{25}}$ Intravenøs Injektion af 106 mgr. Pyrodin.

11 Timer efter Injektionens Ophør:

14/5 24 Kl. 9^{25} Sahli 50, Erythrocyter 3.770.000, Blodplader 357.500

— Dyret dræbes snarest muligt herefter.

Organerne naturlige. Milt: sortebrun, slatten; Vægt 1,2 gram.

H. Femurs max. Lgd. 9,4 cm., Tibias max. Lgd. 10,2 cm. Overgangslinien 4,5 cm. fra distale Tibiaende.

Knoglemarven: mørke-rød, ingen Blødninger.

Mikroskopi:

Milt: De sinøse Hulrum meget stærkt udspilede af Erythrocyter. Ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Øvrige Organer naturlige; ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtholdigheden lidt større end almindeligt (¼), specielt omkring de centralt beliggende store Karstammer. Ingen Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 317—10—102—34—3W—5F—2D—2K = 475; $\frac{475}{5}$ = 95,0; 95;

Corp. vertebr.: 251—0—66—26—1W—2F = 346; $\frac{346}{5}$ = 69,2; 69.

5. Forsøg.

Bæverkanin, ♂, Vægt 1530 gram.

14/5 24 Kl. 1^{00} Sahli 75, Erythrocyter 4.740.000, Blodplader 509.000.

— Kl. 3^{30} Intravenøs Injektion af 92 mgr. Pyrodin.

15/5 24 Kl. 1^{30} 22 Timer efter Injektionens Ophør: Sahli 54, Erythrocyter 3.735.000, Blodplader 528.500.
Dyret dræbes snarest muligt herefter.

Sektion:
Milt: blaa-rød. Vægt 1,8 gram. Øvrige Organer naturlige.
H. Femurs max. Lgd. 9,1 cm., Tibias max. Lgd. 10,2 cm. Overgangslinien 4,6 cm. fra distale Tibiaende.
Knoglemarven: stærkt blodholdig; ingen makroskopisk synlige Blødninger.

Mikroskopi:
Milt: stærkt blodfyldt. Øvrige Organer nat.
Knoglemarven: Fedtholdigheden normal ($^1/_5$). Ingen Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:
H. Femur: 317—2—85—27—2W—5F—6D—3K = 447; $\frac{447}{5}$ = 89,4; 89.

6. Forsøg.

Kanin, harefarvet, ♀, Vægt 2000 gram.

Forsøgsdag	Dato	Sahli	Erythrocyter	Blodplader	Dosis
1	5/1 24	88	5.835.000	(861.000)	5 mgr.
2	6/1 24	64	4.610.000	(880.000)	5 »
3	7/1 24	70	4.225.000	(551.200)	10 »
4	8/1 24	74	4.180.000	(698.400)	20 »
5	9/1 24	60	3.830.000	(1.031.600)	40 »
6	10/1 24	48	2.995.000	(805.400)	40 »
7	11/1 24	22	1.520.000	(688.600)	
8	12/1 24	16	1.035.000	(820.000)	40 »
9	13/1 24 Morgen findes Dyret dødt og koldt.				
					ialt 160 mgr.

8/1 er Plasmaet brunligt.

Sektion:
Organerne anæmiske. Milt: Vægt 2,7 gram. Pulpa chokoladefarvet, henflydende.
H. Femurs max. Lgd. 8,6 cm., Tibias max. Lgd. 9,3 cm. Overgangslinien 4 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:
Lunge: »nøgne« Megakaryocyter (1 pr. 1.74 mm²). Milt: stærkt blodfyldt. Ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven: Fedtvæv kun paa enkelte, mindre, begrænsede Partier. Talrige Blodplader i Karrene.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 206—0—10—3—18F—1D = 238; $\frac{238}{5}$ = 47,6; 48.

Resumé:

Paa 5 Kaniner har jeg injiceret Pyrodin intravenøst i ens Dosis (6 ctgr.) pr. kg; Dyrene er blevet dræbt 3/4 (1.), 3 (2.—3.), 11 (4.) og 22 (5.) Timer efter. Der er tillige blevet anstillet eet Forsøg af 9 Dages Varighed med stigende Pyrodinmængder (ialt 160 mgr.) (6.).

Blodpladerne har ikke vist den hurtige og stærke Stigning, der efter alle tidligere givne Beskrivelser skal kunne indtræde i umiddelbar Tilslutning til Pyrodininjektion.

I 1. fandt jeg normale Tal og i 2. en ubetydelig Stigning. Da dette Forsøg blev gentaget (3.), og der samtidig blev foretaget Blodpladetælling hver Time, gav der sig et Blodpladefald tilkende. Minimum naaedes efter 2 Timer; lige før Dyret blev dræbt var Blodpladetallet atter normalt. I 4. formindskedes Blodpladetallet til ca. $^3/_5$ af den oprindelige Værdi, og i 5. sporedes ingen Svingninger.

Det fremgaar heraf, at Pyrodininjektion fremkalder et kortvarigt Blodpladefald 1—2 Timer efter Injektionen (3.), ligesom Blodpladernes Mængde i ringe Grad var nedsat 11 Timer efter (4.).

Blodpladerne har lige saa lidt i Udstrygningspræparater (farvet a. m. Leishman) som i Tællekammer vist Størrelsesforandringer eller Tendens til Agglutination.

Megakaryocyttallene laa i de 5 Tilfælde indenfor de normale Grænser 84 (1.), 90 (2.), 126 (3.), 95 (4.), 89 (5.); i 6. lidt under det normale, 48 (6.) (pr. 100 Synsfelter). De Wrightske Figurers Antal var: 0,4 (1.), 3,6 (2.), 1,0 (3.), 0,6 (4.), 0,4 (5.) og 0 (6). I 2. var det over det normale, ellers stærkt nedsat.

De af *Perroncito* og *Pianese* anstillede Iagttagelser over Pyrodinvirkningen synes herved at have ladet sig bekræfte. Jeg finder imidlertid, at der ikke vil kunne tilægges de Resultater nogen afgørende Betydning, der er vundet ved den af dem benyttede, meget mangelfulde Teknik.

»Fagocytose«billedernes Antal var meget stærkt svingende, fra 0,4—18,6, gennemsnitlig 4,2 (pr. 100 Synsfelter). Gennemsnitstallet var altsaa kendelig forøget (normalt 2,2).

I et enkelt Tilfælde har Pyrodin bevirket, at Megakaryocyter er gaaet over i Lungekredsløbet.

I Tilslutning til Pyrodininjektionerne var Blodets Koagulationstendens stærkt øget; efter nogle Timer aftog denne dog tilsyneladende atter. Dette Forhold, antager jeg, har givet Anledning til, at man har ment, at der fandt en Blodpladestigning Sted i umiddelbar Tilslutning til Pyrodininjektion. Næsten alle de tidligere benyttede Tællemetoder har saaledes undladt at tage tilbørligt Hensyn til Blodpladernes Fragilitet. Øges denne (f. Eks. ved Pyrodininjektion), vil Blodpladernes Tal let synes større, idet man nu ogsaa kommer til at tælle delvis henfaldne Blodplader med. Naar Pyrodinvirkningen ophørte at give sig tilkende, har man atter fundet normale Tal.

Erythrocyttallet var konstant $^3/_4$—$^2/_3$ af det normale.

Resultatet af disse Undersøgelser staar paa den ene Side fuldstændig i Modstrid med de Iagttagelser, Wright-Teoriens Tilhængere har gjort, og er paa den anden Side noget afvigende fra den Opfattelse, Modstanderne har dannet sig om Pyrodins Virkning. Ved Hjælp af det nævnte Stof er det ikke muligt at paavise Tegn paa Samhørighed mellem Megakaryocyter og Blodplader. Stoffet maa anses for uanvendeligt til Beviser saavel for som imod Teorien.

FORSØG MED PEPTON.

Tidligere Undersøgere.

Uden at komme nærmere ind paa Litteraturen om Peptons Virkning paa Blodet, skal jeg her omtale et Par Meddelelser, der maa siges at have Interesse for det forhaandenværende Emne.

Efter *Seeligers* Undersøgelser (1923) skal Peptoninjektion kunne fremkalde en forbigaaende Thrombopeni i det cirkulerende Blod, tydeligt Henfald af Blodplader i Makrofagerne, samt, som Reaktion herpaa, stærk Forøgelse af de Wrightske Figurers Antal. Tillige udfolder baade de i Knoglemarv og i Lungekapillærer beliggende Megakaryocyter stor fagocyterende Virksomhed.

Jolly (1924) anfører, hvorledes hurtig intravenøs Injektion af Pepton (25 ctgr. pr. kg. paa en Hund) gør Blodet inkoagulabet og baade brat og betydeligt formindsker Blodpladernes Antal i det cirkulerende Blod. Normale Værdier genfindes 15—30 Minutter efter Injektionen. Blodpladerne destrueres ikke, men findes ophobede i Leverens Kapillærer, antagelig som Følge af Agglutination.

Naegeli gør i sin Hæmatologi (Udg. 1923) en lignende Opfattelse gældende, væsentlig paa Grundlag af *Achard* og *Aynauds, Le Sourd* og *Pagniezs* og *Saccerdottis* Undersøgelser.

Egne Undersøgelser.

Seeligers Mening baade om Thrombopeniens Opstaaen og Ophør synes ikke at være i Overensstemmelse med den almindelige Opfattelse af Peptonvirkningen. Af Interesse er det imidlertid, at han mener at kunne paavise, at det nævnte Stof forøger Megakaryocyternes blodpladedannende Funktion stærkt. Da Spørgsmaalet om Blodpladestruktion efter Peptoninjektion synes at bortfalde, maa man vente netop i dette Stof at have et Middel til primært at paavirke Megakaryocyternes Funktionsudfoldelse.

Det var derfor naturligt, at jeg følte mig foranlediget til at benytte Pepton til mine Undersøgelser over det numeriske Forhold mellem Megakaryocyter og Blodplader.

Efter 4 orienterende Forsøg anstillede jeg de nedenfor nævnte, 4, egentlige Experimenter.

Det benyttede Præparat har været Wittepepton, opløst i Ringers Væske. Injektionen er foretaget ret hurtigt, intravenøst og under eet.

Forsøg 1.

Kanin, hvid, ♀, Vægt 1980 gram.

20/5 24	2^{30}	80	5.600.000	563.500
—	3^{00}—3^{05} Injektion af 40 ctgr. Pepton (i 10 cm³ Ringers Væske).			
21/5 24	4^{05}	82	5.365.000	531.500
»	4^{07} dræbes Dyret. (25 Timer efter Injektionen).			

Sektion:
Organerne naturlige. Milt 1,35 gram.
Knoglemarven naturlig.

H. Femurs max. Lgd. 9.7 cm., Tibias max. Lgd. 10,6 cm. Overgangslinien 5 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Organerne naturlige. Kun i Miltsinus findes een, fagocyterende, granuleret Megakaryocyt pr. Snit. Ingen Blodplader.

Knoglemarven naturlig. Fedtholdigheden normal ($^1/_5$).

Megakaryocytdifferentialtælling:

H.Femur: 228—12—88—40—19W—60F—5D = 452; $\frac{452}{5}$ = 90,4; 90;

Corp. vertebr.: 252—1—72—23—7W—65F—3D = 423; $\frac{423}{5}$ = 84,6; 85.

Forsøg 2.

Kanin, hvid, ♀, Vægt 1930 gram.

Forsøgsdag	Dato	Kl.	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	20/5 24	4^{30}	82	5.340.000	483.000
	–	4^{48}—4^{58} Injektion af 1 gram Pepton (opløst i 8,5 cm³ Ringers Væske).			
	—	5^{08}			28.500
	-	5^{18}			78.000
	—	5^{23}			126.500
	—	5^{43}			255.500
	-	6^{13}			253.000
	- –	6^{53}			308.500
	-	9^{08}			349.000
2	21/5 24	8^{53}			318.000
	—	4^{53}	67	4.510.000	486.000
	—	4^{53} dræbes Dyret (24 Timer efter Injektionen).			

Til Blodprøvetagningen den 1. Forsøgsdag medgaar 9 cm³ + ringe Extratab paa et Par cm³.

Sektion:

Organerne uden makroskopiske Forandringer; Milt: 1,35 gram.

Knoglemarven naturlig.

H. Femurs max. Lgd. 10 cm., h. Tibias max. Lgd. 11 cm. Overgangslinien 5,5 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Organerne naturlige. Ingen Megakaryocyter eller Blodplader.

Knoglemarven naturlig. Fedtholdigheden normal ($^2/_5$).

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 266—5—60—28—13W—10F—4D—2K = 388; $\frac{388}{5}$ = 77,6; 78;

Corp. vertebr.: 291—2—48—10—3W—2F—2D = 358; $\frac{358}{5}$ = 71,6; 72.

Forsøg 3.

Kanin (Bæver-), ♀; Vægt 1860 gram.

Forsøgsdag	Dato	Kl.	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
1	23/5 24	9^{30}	70	4.405.000	561.000
	—	10^{25} 10^{30}	Injektion af 1 gram Pepton (opløst i 40 cm³ Ringers Væske).		
	—	10^{40}			176.000
	—	10^{45}			409.000
	—	10^{50}			455.000
	—	10^{55}			502.000
	—	11^{00}			424.000
	—	11^{20}			533.000
	—	12^{00}			590.000
	—	1^{30}			629.000
	—	5^{30}			371.000
2	24/5 24	3^{00}	56	3.275.000	499.000
	—	3^{05}	dræbes Dyret (28½ Time efter Injektionen).		

Til Blodprøvetagningen den 1. Forsøgsdag medgaar 10 cm³ + et Extratab paa et Par cm³.

Sektion:

Organerne uden makroskopiske Forandringer; Milt: 1,6 gram.

Knoglemarven naturlig.

H. Femurs max. Lgd. 9,4 cm., Tibias max. Lgd. 10,0 cm. Overgangslinien 5,0 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

Organerne naturlige. I større Arteriegren i Lymfeglandel findes velbevarede Blodplader. I Lunge findes »nøgne« Megakaryocyter (1 pr. 1,95 mm²).

Knoglemarven: Fedtmængden normal ($^1/_5$).

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 226—5—72—33—10W—32F—4D = 382; $\frac{382}{5}$ = 76,4; 76;

Corp. vertebr.: 257—1—53—4—9W—18F—3D = 345; $\frac{345}{5}$ = 69,0; 69.

Forsøg 4.

Kanin, (Bæver-), ♂, Vægt 1590 gram.

Dato	Kl.	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
23/5 24	3^{20}	75	4.925.000	710.000
—	3^{54}—3^{55}	Injektion af 1 gram Pepton (opløst i 16 cm³ Ringers Væske).		

Dato	Kl.	Sahli	Erythrocyter	Blodplader
(23/5 24)	3^{57}	Dyret kollaberer.		
—	4^{02}			66.000
—	4^{04}	Dyret dræbes (9 Min. efter Injektionen).		

Sektion, hvorunder der tages Blodudstrygningspræparater fra samtlige Organer.

Organerne naturlige. Milt: 1,25 gram.

H. Femurs max. Lgd. 9,0 cm., h. Tibias max. Lgd. 9,8 cm. Overgangslinien 4,7 cm. fra distale Tibiaende.

Mikroskopi:

1. Udstrygningspræparater farvet a. m. Leishman.
   I Blod fra Lunge, Lever, Milt, Nyrer, Lymfeglandler, lader der sig se en Del Blodplader, baade normalt lejrede og i normal Mængde.
2. Snitpræparater:
   Lunge: »nøgne« Megakaryocyter (1 pr. 1,24 mm^2); en Del Blodplader.
   Lymfeglandel: ret store, granulerede Megakaryocyter (1 pr. 1 cm^2); en Del Blodplader.
   Øvrige Organer: ingen Megakaryocyter eller Blodplader.
   Knoglemarv: Fedtmængden normal ($^4/_5$); mange Megakaryocyter synes intravaskulært beliggende; en Del Blodplader.

Megakaryocytdifferentialtælling:

H. Femur: 261—8—98—101—8W—25F—4D—2K = 507 : $\frac{507}{5}$ = 101,4; 101.

Resumé:

Der er blevet anstillet 4 Forsøg med intravenøs Injektion af Pepton (Witte). Dosis har været fra 20 ctgr. (1.)—63 ctgr. (4.) pr. kg.; disse Peptonmængder har ved 4 orienterende Forsøg vist sig hensigtsmæssige.

Forsøgene har strakt sig over 9 Minutter (4.), 24, (2.), 25 (1.) og 28½ (3.) Time.

Seeligers Undersøgelsesresultater har kun delvis ladet sig bekræfte.

Jeg har set baade Megakaryocyternes Overgang til Kredsløbet, disse Cellers Optræden i Lungekapillærerne samt en stærk Tiltagen af »fagocyterende« Celler (gennemsnitlig 6,1 pr. 100 Synsfelter i Femur).

Seeligers Iagttagelser har derimod vist sig at være ukorrekte baade m. H. t. Wright-Figurernes Tiltagen i Antal samt Blodpladernes

talmæssige Svingninger. De uregelmæssige Megakaryocytfigurers Antal var alle beliggende omkring de normale Gennemsnitsværdier; i intet Tilfælde laa de over de normale Svingningers øverste Grænse. De Wrightske Figurers Antal var saaledes 3,8 (1.), 2,6 (2.), 2,0 (3.) og 1,6 (4.) (pr. 100 Synsfelter). Megakaryocyttallene viste sig i alle Forsøgene at være normale: 90 (1.), 78 (2.), 76 (3.) og 101 (4.). Pepton fremkalder ingen Destruktion af Blodplader. Deres bratte Forsvinden og Genoptræden synes kun at lade sig forklare som en forbigaaende Fordelingsanomali. Mekanismen herved er det imidlertid ikke lykkedes mig at paavise. Blodpladernes Størrelse og Form har under Peptonforsøgene altid været normal, hvadenten de absolutte Tal efter Injektionen var smaa eller store. Ved intravaskulært Henfald vilde der derimod altid findes Blodplader af forskellig Størrelse (sml. Saponinforsøgene), ligesom Blodpladernes Regeneration efter Destruktion eller Udtømmelse varer flere Dage.

Paa det Tidspunkt, da Blodpladerne i Tilslutning til Peptoninjektionen var meget faatallige i det perifere Blod, har der ikke ladet sig paavise kvantitative Ændringer af Blodpladernes Mængde i de forskellige Organers Kar.

Som Følge af det ovenanførte bortfalder Spørgsmaalet om Destruktion af Blodplader i Makrofagerne. Mine histologiske Undersøgelser har heller ikke i saa Henseende bekræftet *Seeligers* Opfattelse.

Det Erythrocytfald, der har ladet sig se, maa udelukkende tilskrives de mange Blodprøver, der har været nødvendige til de med korte Mellemrum foretagne Undersøgelser.

Sammenfattes det ovenanførte, ser man, at Pepton hverken fremkalder Ændringer i Blodpladernes absolutte Mængde eller formaar at øge de uregelmæssige Megakaryocytfigurers Antal udover den normale øverste Grænse.

RESUMÉ.

Dans ce travail, une analyse minutieuse a été faite de la théorie de *Wright,* concernant les hématoblastes. L'hypothèse y est exposée, avec énumération détaillée des résultats qu'ont apportées les recherches faites au cours du temps. De nombreux auteurs ont cru pouvoir confirmer la théorie de Wright; d'autres, moins nombreux, l'infirment.

Mes recherches se divisent en deux groupes principaux: études histologiques et études expérimentales. Les premières s'occupent spécialement de l'apparence, dans la coupe, de ces mégacaryocytes, de forme extraordinaire, qu'on apelle »les figures de Wright«, ainsi que de leur structure et origine; puis, elles décrivent l'apparance — aussi dans la coupe — des hématoblastes, et exposent la classification systématique des mégacaryocytes, leur fréquence et leur sort.

Une série d'expériences a été entreprise ayant pour but de vérifier la proportion numérique que tiennent ces formations.

J'ai essayé d'employer la technique de coloration préconisée par Wright, mais sa méthode ne m'a paru que médiocrement utile. Comme résultat de nombreux essais de fixation et de coloration j'ai réussi à trouver moi-même un procédé permettant de colorer d'une façon élective les granules azurophiles des mégacaryocytes dans les coupes.

Les mégacaryocytes de forme irrégulière, que Wright considère comme des éléments destinés à se transformer en hématoblastes, ont été examinés, tant dans des coupes isolées, minces ou épaisses, que dans des coupes en série.

Un examen des mégacaryocytes a démontré qu'ils sont absolument incapables de produire des corps ressemblant à des hématoblastes. Normalement, aucun groupement de granules n'a lieu, ni à l'intérieur des cellules ni à l'extérieur. Les figures qu'on a cru pouvoir interpré-

ter comme indiquant une formation d'hématoblastes, sont produites, simplement, par *l'impression* qu'ont donnée les mégacaryocytes et leurs prolongements protoplasmatiques, à cause de la variété des angles auxquels la coupe a frappée les megacaryocytes et leurs prolongements protoplasmatiques.

L'espèce de groupement des granulations, qu'on a décrit sous le nom de »champ«, est un produit artificiel. On peut distinguer, de ces »champs«, trois formes différentes.

Les mégacaryocytes intra-vasculaires ne forment jamais des »figures de Wright«, mais dans certains conditions les mégacaryocytes possèdent la faculté de pouvoir pénétrer, partiellement, les parois du vaisseau. Les variations des cellules, irrégulières, qui résultent d'une pénétration pareille, consistent toujours en un corps dont la disposition est extra-vasculaire, mais dont les prolongements protoplasmatiques plus ou moins nombreux s'étendent jusqu'à l'intérieur du vaisseau.

Les hématoblastes nettement caractérisées se présentent invariablement, dans la coupe microscopique, comme des corps homogènes, sphériques ou ovales, au centre desquels on ne voit pas le moindre amoncellement de granulations. Il n'est donc possible, par conséquent, de démontrer aucune ressemblance, quelle qu'elle soit, entre ces éléments et le protoplasme des mégacaryocytes. Ce que *Wright*, sur les coupes, a pris pour des hématoblastes granulées, a été, en réalité, des précipités de plasma trop fortement teintés, et des fragments d'hématoblastes.

Les hématoblastes se rencontrent dans tous les organes. Quant aux »anomalies de distribution«, dont tant de descriptions ont été faites, il est probable qu'elles ont un certain rapport avec la fragilité des hématoblastes.

Les mégacaryocytes sont de deux types: granuleux et non-granuleux. Les uns comme les autres peuvent avoir un noyau large, clair, en forme de couronne; ou bien le noyau peut être plus petit, solide, de couleur foncée. On rencontre également de rares cellules présentant une disposition curieuse de la chromatine (division), ainsi que des cellules géantes, dont le protoplasme contient de petites myélocytes. Il paraît impossible de déterminer lesquels, exactement, sont

les rapports mutuels, génésiques et fonctionnels, de ces deux types de cellules.

Il n'existe pas des noyaux »nus«, de mégacaryocytes.

Même dans leur dégénérescence, les mégacaryocytes continuent invariablement à rester dans le type auquel ils appartenaient dans leur origine.

Pour la détermination de la proportion numérique entre les mégacaryocytes et les hématoblastes j'ai établi des méthodes qui, au point de vue de l'exactitude, paraissent être supérieures à celles dont on s'est servi jusqu'à présent.

La numération des hématoblastes a été faite directement, dans le plasma non dilué, en employant la méthode de centrifugation. La moyenne de l'erreur, pour des échantillons obtenus par entaille dans la peau, fut de 9.4 à 12.7 p. 100; pour les échantillons pris directement dans la veine elle fut de 7.1 à 7.7 p. 100 seulement.

La numération des mégacaryocytes a été faite d'après une méthode qui consista à compter ces formations cellulaires dans 500 champs de vision répartis sur des coupes prélevées de 10 endroits différents du fémur droit, — 50 champs de chaque coupe. La moyenne de l'erreur fut de 4.5 à 7.1 p. 100.

De plus, j'ai fait des expériences tendant à démontrer la présence de mégacaryocytes ambulants.

Comme résultat d'une autre série d'expériences, sur un nombre assez considérable de lapins, j'ai déterminé les quantités que renferme normalement le sang, tant de mégacaryocytes que d'hémoglobine, d'érythrocytes et d'hématoblastes. Comme chiffres moyens j'ai trouvé:

Sahli	Érythrocytes	Hématoblastes
♀ 77.3 p. 100	4.810.052	714.557
♂ 83.6 —	5.212.333	715.175

Chiffre des mégacaryocytes, pour 100 champs de vision: dans le fémur, 94.4 (max. 128; min. 56), dans les corps des vertèbres, 83.9.

La proportion entre les nombres des cellules granuleuses et non granuleuses était la suivante:

	granuleuses	non-granuleuses
Dans le fémur	67.3	19.9
Dans les corps des vertèbres	62.3	14.0

La moyenne des »figures de Wright« était, pour 100 champs de vision: dans le fémur, 1.9; dans les corps des vertèbres, 1.8. Le nombre maximum trouvé, de ces figures, dans chacun des deux endroits fut de 4.4; le minimum, de 0.

Parmi les nombreuses expériences qui ont été entreprises, de temps à autre, dans le but de mieux éclairer la théorie de *Wright* sur les hématoblastes, j'ai choisi de refaire les suivantes:

Essais avec de la *saponine* (10 essais, en tout): D'une façon générale, il faut reconnaître que cette substance est mal adaptée à des recherches ayant pour but d'étudier le parallélisme entre les mégacaryocytes et les hématoblastes, à cause de sa toxicité générale, mais surtout à cause de son action déstructive vis-à-vis des organes hématopoiétiques. Le rapport, affirmé par *Firket*, entre la granulation croissante des mégacaryocytes et le nombre des hématoblastes, n'existe pas.

Saignements aigus ou chroniques (9 essais): Il n'existe aucune connexion réciproque entre le nombre des mégacaryocytes et celui des hématoblastes. Même après des saignées pratiquées tous les jours, pendant 33 jours, le chiffre des mégacaryocytes ne dépassa pas la normale. Celui des hématoblastes accusait des variations considérables: toutefois, dans chaque cas, il restait, tout le temps, au dessous de la valeur constatée au début de l'expérience.

De 2 essais de *saignée, suivie par la ré-injection du sang défibriné*, et deux autres: de *saignée suivie par la ré injection des érythrocytes et des leucocytes*, ni les uns ni les autres ne fournirent des résultats positifs.

Six essais avec de la *pyrodine* restèrent négatifs, tant au point de vue augmentation des hématoblastes qu'en ce qui concerne des changements dans le nombre des mégacaryocytes.

Dans huit expériences avec de la *peptone*, il ne fut observé ni déstruction des hématoblastes ni aucune augmentation du nombre des »figures de Wright« au dessus du maximum de la normale.

Ainsi, la théorie de *Wright*, concernant les hématoblastes, demeure réfutée par l'ensemble de toutes les expériences et recherches détaillées ici.

LITTERATURFORTEGNELSE.

Als: Oluf Thomsens Mikrometode til Tælling af Blodplader. — Hospitalstidende Bd. 66, 1923. p. 425.

Aschoff: Über den Aufbau der menschlichen Thromben und das Vorkommen von Plättchen in den blutbildenden Organen. — Virch. Arch. Bd. *130*. 1892. p. 93.

Aschoff: Über kapilläre Embolie von riesenkernhaltigen Zellen. — Virch. Arch. Bd. 134. 1893, p. 11.

Aschoff: Thrombose und Embolie. — Vers. deut. Naturf. u. Ärzte, Karlsruhe, Sept. 1911. — Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. *22*, 1911, p. 899.

Aschoff: Diskussionsindlæg (se Schridde 1911) (2).

Aschoff: Path. Anat. 4. Udg. 1919.

Andersen: Blodpladetælling efter Oluf Thomsens Mikrometode hos Rotter paa A-vitaminfri Kost. — Bibl. f. Læger. Sept. 1924.

Aynaud: Le globulin de l'homme. Méthodes d'observation et de numération applicables en clinique. — Le Progrès médicial. No. *16*. 1911. p. 193. — Fol. haemat. Bd. *12*. *1912*. (Zentralorg.) p. 220.

Bedson: An enquiry into the genesis of the mammalian blood platelet. — The Journ. of Path. and Bacteriol. Bd. *26*, 1923. p. 145.

Benda: cit. Schilling 1913 (p. 173).

Bender: cit. Degkwitz. 1920. (p. 160).

Bizzozero: Über die Blutplättchen. — Festschr. f. Rudolf Virchov. Bd. *1*. 1891. p. 470.

Brieger: Zur Blutplättchenfrage. — Deut. med. Wochenschr. Bd. *46*. 1920. p. 1053.

Brown: The histogenesis of blood platelets. — The Journ. of experim. Med. *18*. 1913. p. 278.

Bunting: Blood platelets and megakaryocyte reactions in the rabbit. — The Journ. of experim. Med. Bd. *11*. 1909. p. 541. — Studies from the Rochefeller Instit. f. med. research. Bd. *10*. 1910. p. 541.

Bunting: Bloodplatelets and megakaryocytes in Hodgkins disease. — The Johns Hopkins Hospit. Bull. Bd. *22*. 1911. p. 114.

Bunting: The blood picture in Hodgkins disease. — The Johns Hopkins Hospit. Bull. Bd. *22*. 1911, p. 369.

Bunting: Vicarious blood-platelet formation. — The Johns Hopkins Hospit. Bull. Bd. *31—32*. 1920—21. p. 439.

Castronuovo: Piastrine e pseudopiastrine nel sangue circolante. — Haematologica. Bd. *1*. 1920. p. 474.

Cesa Bianchi: Splenomegalia mieloide aleucemica. — Haematologica, Bd. *2*. 1921. p. 65.

Darling: The blood platelets in tropical and other form of anemia. — Transact. Soc. trop. med. and hygien. Bd. *5*. 1911. — Fol. haematolog. Bd. *14*, 1913, (Zentralorg.) p. 7.

Degkwitz: Studien über Blutplättchen. — Fol. haematolog. Bd. *25*. 1920. (Archiv). p. 153.

C. Demel: Sull' origine delle piastrine dai megacariociti. — Arch. per le Scienze Mediche. Bd. *38*. 1914. p. 351.

C. Demel: Osservazioni istologiche sulla milza del riccio. — Atti della Soc. Tosc. di Sc. Naturali. Bd. *24*. 1914.

C. Demel: Sulla presenza e sulla genesi delle piastrine nella milza dei mammiferi. — Memoire della Soc. Tosc. di Sc. Naturali. Bd. *25*. 1915.

C. Demel: Sulla funzione piastrinocinetica dei megacariociti e sulle modalità della loro penetrazione in circolo. — Pathologica Bd. *1*, 1915, p. 317.

C. Demel: Le piastrine; ricerche sulla loro origine, sulla modalita della loro penetrazione nei vasi; sulla variazioni morfologiche che possone presentare in circulo. — Arch. per le Scienze Mediche. Bd. *42*. 1919. — Arch. ital. de biolog. 1919, Bd. *69*, p. 223.

C. Demel: Fatti ed ipotesi sulla origine delle piastrine. — Haematologica. Bd. 5. 1924. p. 104.

Dereweenko: Über die Herkunft der Blutplättchen im Thrombus nach Untersuchungen an dobbelt unterbundenen Gefässen. — Zieglers Beitr. Bd. *48*. 1910. p. 123.

Di Guglielmo: La leucemia acuta. — N. lovene e C., Napoli. 1916. p. 47.

Di Guglielmo: Un caso di eritroleucemia. — Megacariociti in circolo e loro funzione piastrinocinetica. — Fol. medica 1917.

Di Guglielmo: Megacariociti e piastrine negli organi emopoietici e nel sangue circolante. — Comunic. all'Accad. medio-chir. di Napoli. 1919.

Di Guglielmo: Funcçao piastrinoblastica des megacaryocytos no circulo sanguineo. — Comun. alla »Sociedade de Medicina e Cirurgia de S. Paulo«. Okt. 1920.

Di Guglielmo: Eritroleucemia e piastrinemia. — Fol. medica. Bd. *6*. 1920. p. 1.

Di Guglielmo: Megacariociti e piastrine. — Haematologica. 1920, Bd. *1*. p. 303.

Di Guglielmo: Nuovo contributo alla conoscenza della piastrinemia. — Comun. Accad. Peloritana, Messina, Marts 1922.

Di Guglielmo: I megacariociti nel sangue periferico (Contributo alla patologia del »sistema megacariopoietico«). — Haematologica, Bd. *4*. 1923. p. 182.

Downey: The origin of blood platelets. — Fol. haematolog. Bd. *15*. 1913. (Archiv). p. 25.

Duke: The rate of regeneration of blood platelets. — The Journ. of experim. Med. Bd. *14*. 1911. p. 265.

Ehrlich m. fl.: Enzyklopädie der mikroskopischen Technik, 2. Opl. 1910.

Ellermann: Granulafarvning i Snit af de bloddannende Organer hos Mennesket. — Hospitalstidende, Bd. *62*, 1919. p. 897. — Zeitschr. f. wiss. Mikroskopi u. f. mikr. Technik. Bd. *36*. 1919. p. 56.

Ellermann: Über Myeloblasten und partiell granulierte Myelocyten. — Virch. Arch. Bd. *244*. 1923. p. 493.

Ellermann og Meulengracht: Undersøgelser over Lipæmi ved Blødningsanæmi hos Kaniner. — Ugeskr. f. Læger Bd. *79*. 1917, p. 1287.

Erede: Sulla genesi delle piastrine. — Policlinico (Sez. Medica) 1921.

Erede: Piastrinosi e gravidanza. — Haematologica. Bd. *2*. 1921. p. 579.

Fabricius-Møller: Experimentelle Studier over hæmorrhagisk Diathese fremkaldt ved Røntgenstraaler. — Disput. 1922. (Kbhvn.).

Ferrata & Negreiros-Rinaldi: Sulla genesi, sulla struttura dei megacariociti in condizioni normali e pathologiche e sui loro rapporti colle piastrine del sangue circolante. — Fol. medica. Bd. *1*. 1915. p. 815.

Ferrata: Le emopatie. — Bd. *1*. (»Le piastrine«) 1918. (2. Udg.).

Firket: Recherches sur la régéneration des plaquettes. — Compt rend. soc. biol. Nr. *21*. 1922. p. 84.

Firket: Recherches sur la differensation des mégacaryocytes et leur fonctions. — Compt rend. soc. biol. Nr. *21*. 1922. p. 86.

Firket: Recherches sur la régéneration des plaquettes dans l'intoxication par la saponine et après défibrination du sang. — Disput. Liege. 1922.

Firket & Campos: Recherches sur l'anémie expérimentale produite par la saponine. — Compt. rend. soc. biol. Bd. *85*, 1921, p. 727.

Firket & Campos: Action de la saponine sur les plaquettes et sur leur regeneration. — Compt rend. soc. biol. Bd. *85*. 1921. p. 730.

Firket & Campos: Generalized megacaryocytic reaction to saponin poisoning. — The Johns Hopkins Hospit. Bull. Bd. *33*. 1922. p. 271.

Foà: Beitrag zum Studium des Knochenmarks. — Zieglers Beitr. Bd. *25*. 1899. p. 376.

Foà: Constributo alla conoscenza degli elementi constitutivi della polpa splenica. — Arch. per le Scienze Mediche. Bd. *30*. 1906. p. 29.

Foà: Sangue e organi ematopoietici. — Tratt. di Anat. path. 1910.

Foà: Sulla produzione delle piastrine e sulla transformatione fibroadenoidea della milza. — Gior. d. r. Accad. di med. di Torino, Bd. *21*, 1915. p. 175. — Arch. per le Scienze Mediche. Bd. *34*. 1915.

Fonio: Über ein neues Verfahren der Blutplättchenzählung. — Deut. Zeitschr. f. Chir. Bd. *117*. 1912. p. 176.

Fonio: Über das Vorkommen von Riesenblutplättchen. — Corr.-Bl. f. schweiz. Aerzte. Bd. *48*. 1918. p. 1300. — Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. 29, 1918. p. 656.

Foerster: Über Morbus maculosus Werlhofii. — Zeitschr. f. klin. Med. Bd. *92*. 1921. p. 170.

Foti: Contributo sperimentale alla genesi delle piastrine nell'avvelenamento acuto da pirodina. — Arch. di fisiologia. Bd. *11*. 1913.

Frank: Die essentielle Thrombopenie. — Berl. klin. Wochenschr. Bd. *52*. 1915. p. 454 og p. 490.

Fusari: Arch. per le scienze med. 1886. p. 235 (cit. Bizzozero 1891).

Gazzetti: Sull'origine delle piastrine del sangue. — Boll. d. Soc. med.-chir. di Modena. Bd. *19—20*. 1917—1918. p. 44.

Giemsa: Färbemethoden für Malariaparasiten. — Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. Bd. *31*, 1902, p. 429 og Bd. *32*, 1902, p. 307.

Giemsa: Eine Vereinfachung und Vervollkommung meiner Metylenazur- Metylenblau- Eosin-Färbenmethode zur Erziehung der Romanowsky-Nochtschen Chromatinfärbung. — Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. Bd. *37*, 1904, p. 308.

Giemsa: Über die Färbung von Schnitten mittels Azur-Eosin. — Deut. med. Wochenschr. Nr. *12*. 1910.

Glanzmann: Hereditäre hämorrhagische Thrombosthenie (ein Beitrag zur Pathologie der Blutplättchen). — Jahrbuch f. Kinderheilk. Bd. *88*. 1918.

Godlewski: Journal médical français. Bd. *11*, Nr. 1. 1922 (cit. *Firket:* Disput.).

Gram: Om Blodpladetællingens Teknik og kliniske Betydning (Oversigtsartikel). Ugeskr. f. Læger. Bd. *80*, 1918. p. 1651.

Gram: On the platelet count and bleeding time in diseases of the blood. — Arch. of int. Medic. Bd. *25*. 1920.

Gram: Systematic examination of the blood in hemorrhagic diathesis. — Acta medica scand. Nr. *55*, 1921, p. 603.

Gram: Studier over Fibrinmængden i Menneskets Blod og Plasma. — Disput. 1921. (Kbhvn.).

Hanser: Zur Frage der Thrombose. — Virch. Arch. Bd. *213*. 1913. p. 65.

Hayem: Leçons sur les maladies du sang. — Paris 1889. (cit. Bizzozero 1891).

Heidenhain: Neue Untersuchungen über die Centralkörper und ihre Beziehungen zum Kern- und Zellenprotoplasma. — Arch. f. mikrosk. Anat. Bd. *43*. 1894. p. 423.

Heinz: Über Reizmittel für die blutbildenden Organe. — Deut. med. Wochenschr. Bd. *55*. 1920. p. 674 og p. 1437.

Helly: Die hämatopoietischen Organe in ihren Beziehungen zur Pathologie des Blutes. — Wien 1906.

Hirschfeld: Lehrbuch der Blutkrankheiten. — Berlin 1918.

Howell: Observations upon the occurrence, structure and function of the giant cells of the marrow. — Journ. of Morph. Bd. *4*. 1891. p. 117.

Isaak & Möckel: Experimentelle Untersuchungen über die Einwirkung des Saponins auf die hämotopoiëtischen Organe. — Zeitschr. f. klin. Med. Bd. *72*. 1911. p. 231.

Jolly: Traité technique d'hématologie. — Paris 1923.

Jordan: A contribution to the problems concerning the origin, structure, genetic relationship and function of the giant-cells of hemopoietic and osteolytic foci. — Am. Journ. of Anat. Bd. *24*. 1918.

Jordan: Further studies on red bone-marrow. — Am. Journ. of Anat. Bd. *27*. 1920.

Jørgensen: Undersøgelser over de ved Strofantininjektion experimentelt fremkaldte kortvarige Svingninger i Leukocyttallet. — Disput. 1915. (Kbhvn.).

Kaznelson: Verschwinden der hämorrhagischen Diathese bei einem Falle von »essentieller Thrombopenie« (Frank) nach Milzexstirpation. Splenogene thrombolytische Purpura. — Wien klin. Wochenschr. Bd. *29*. 1916. p. 1451.

Kaznelson: Ein Beitrag zur Wright's Theorie der Blutplättchenentstehung. — Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. *122*. 1917. p. 72.

Kaznelson: Zur Pathogenese des hämorrhagischen Tyfus. — Deut. med. Wochenschr. Bd. *44*. 1918. (specielt Fodnoten p. 116).

Kaznelson: Thrombolytisk Purpura. — Zeitschr. f. klin. Med. Bd. *87*, p. 133 og Bd. *88*. 1919. p. 155.

Keibel: Diskussionsindlæg (se Schridde 1911 (2)).

Klaschen: Untersuchungen über die Riesenzellen in der Mäusemilz. — Virch. Arch. Bd. *237*. 1922. p. 184.

Kervily: Sur la présence de mégacaryocytes dans la rate de plusieurs mammifères adultes normaux. — Compt. rend. soc. biol. Bd. *72*. (II) 1912. p. 34.

Kervily: Sur les mégacaryocytes de la rate du chien adulte. Valeur de la réaction myéloïde expérimentale de la rate du chien. — Compt. rend. soc. biol. Bd. *72*. (II). 1912. p. 90.

Klein: Über eine bis jetzt unbekannte Stammzelle der Knochenmarkszellen (die Myelogonie) und über die wahre Stammzellenleukämie (Myelogonienleukämie). — Deut. med. Wochenschr. Bd. *39*, (II), 1913. p. 2513.

Klein: Die Myelogonie als Stammzelle der Knochenmarkszellen im Blute und in den blutbildenden Organen und ihre Bedeutung unter normalen und pathologischen Verhältnissen. — Berlin 1914.

Kirsch: Riesenblutplättchen bei beträchtlicher Erhöhung der Blutplättchengesamtzahl. — Wien. med. Wochenschr. Bd. *69*. 1919. p. 1801.

Komocki: Über die Bildungsart der Körner im Protoplasma der Leukocyten und über die Herkunft der Blutplättchen. — Virch. Arch. Bd. *248*. 1924. p. 21.

Kuborn: Du développement des vaisseaux et du sang dans le foie de l'embryon. — Anat. Anz. Bd. *5*. 1890. p. 282.

Kuczynski: Vergleichende Untersuchungen zur Pathologie der Abwehrleistungen. 1. Del. — Virch. Arch. Bd. *234*. 1921. p. 323.

Lambin: L'état actuel de l'hématologie morphologique. — Revue des questions scientifiques. IV. Serie, Bd. *3*. 1923. p. 138.

Le Sourd & Pagniez: Un procédé d'isolement à l'état de pureté des hématoblastes du sang. — Compt. rend. Accad. d. sc. Bd. *142*. 1906. p. 1562.

Le Sourd & Pagniez: Procédé de coloration des plaquettes sangvines dans les coupes d'organes. — Compt. rend. soc. biol. Bd. *71*. 1911. p. 308.

Le Sourd & Pagniez: Recherches sur l'origine des plaquettes. — Compt. rend. soc. biol. Bd. *74*. 1913. (I) p. 580 og (II) p. 788.

Mallory & Wright: Pathological Technique. 7. Udg. 1921.

Marchesini: Sulla piastrinosi. — Policlinico (Sez. Pratica) Bd. *27*. 1920. p. 227.

Marchesini: Sulla piastrinosi e piastrinogenesi. — Policlinico (Sez. Medica). 1921.

Marchesini: Cellule di Bizzozero o megacariociti e piastrine. — Haematologica, Bd. *3*. 1922. p. 193.

Martelli: Sulla genesi ed importanza delle piastrine. — Pathologica Bd. 7, 1914—1915, p. 77.

Martelli: Sulla poligenesi delle piastrine. — Fol. medica. Bd. *5*. 1919. p. 577.

Meulengracht & Gram: Hæmatologisk Teknik. — København 1922.

Minot: Megacaryocytes in the peripheral circulation. — The Journ. of experim. Med. Bd. *36*. 1922. p. 1.

Moschkowski: Zur Theorie der Azureosinfärbung. — Virch. Arch. Bd. *248*. 1924. p. 1.

Mouzon: De quelques traveaux récents sur les purpuras hémorrhagiques. — La presse medicale. Nr. *73*. 1921. p. 726.

Naegeli: Über Knochenmarkriesenzellen in strömenden Blut und deren Beziehung zu Blutplättchen. — Bericht über die XVII Tagung der deutschen patholog. Gesellsch. in München. März 1914. — Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. *25*. 1914. — Verh. d. deutsch. path. Gesellsch. 1914, Bd. *17*. p. 550.

Naegeli: Blutkrankheiten und Blutdiagnostik. — 4. Udg. 1923.

Neumann: Blut und Pigmente. (Gesammelte Abhandlungen). Jena 1917.

Nocht: Zur Färbung der Malariaparasiten. — Zentralbl. f. Bakteriol., Parasitenk. u. Infektionskrankh. Bd. *24*, 1898, p. 839 og Bd. *25*, 1899, p. 17 og p. 764.

Oelhafen: Über Knochenmarksriesenzellen im strömenden Blut. — Fol. haematolog. Bd. *18*. 1914. (Archiv), p. 171.

Ogata: Untersuchungen über die Herkunft der Blutplättchen. — Zieglers Beitr. Bd. *52*. 1912. p. 192.

Ogata: Megakaryocytenembolie und Knochenmarksembolie in Lungenkapillaren. — Zieglers Beitr. Bd. *53*. 1912. p. 120.

Ogata: Über die Herkunft der Blutplättchen. — Verh. d. japan. path. Gesellsch (Tokio) Bd. *3*. 1913. p. 80.

Pappenheim: Fodnote til O. Meyers Referat af Ogatas Undersøgelser 1911. — Fol. haematolog. Bd. *12*. 1912. (Zentralorg.) p. 437.

Pappenheim: Vortr. i Hamb. Ärztl. Verein, Biol. Abt. — Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 989. (cit. *Werzberg*. — Fol. haematolog. Bd. 10, 1910, (Archiv), p. 313).

Pappenheim & Szécsi: Hämozytologische Beobachtungen bei experimenteller Saponinvergiftung der Kaninchen. — Fol. haematolog. Bd. *13*. 1912. (Archiv). p. 25.

Petri: Om Tekniken ved Blodpladetælling ad mod. Thomsen ved Dyreforsøg. — Hospitalstidende Bd. *67*. 1924. p. 65.

Petri: Undersøgelser over Thomsens Blodpladetællemetoder. — Hospitalstidende Bd. *67*, 1924. p. 513.

Petri: Investigations concerning the origin of the blood-platelets. I. Wrights theory. — Acta path. & microbiol. Bd. *2*, 1925. p. 23.

Perroncito: Sulla derivazione delle piastrine dai megacariociti. — Haematologica Bd. *1*. 1920. p. 111.

Perroncito: Sulla derivazione delle piastrine. — Haematologica Bd. *1*. 1920. p. 265.

Perroncito: Sulla derivazione delle piastrine. — Haematologica Bd. *2*. 1921. p. 510.

Pianese: Per una migliore conoscenza dei megacariociti. — Haematologica Bd. *1*. 1920. p. 61.

Pianese: Richerche sulle piastrine. — Atti della R. Acc. Med. Chir. di Napoli 1920.

Reitano: Di alcune funzioni dei megacariociti. — Haematologica. Bd. *2*. 1921. p. 383.

Ricci: Sopra un caso di leucemia cronica granulocitica con megacariocitosi e piastrinemia. — Il Policlinico, (Sez. Med.), Hefte 6. 1922.

Richardson: Effect of severe hemorrhage on the number of blood plates in blood from the peripheral circulation of rabbits. — The Journ. of med. Research. Bd. *13*. 1904—1905. p. 99.

Romanowsky: Zur Frage der Parasitologie und Therapi der Malaria. — Petersburg, 1891.

Rosenthal & Falkenheim: Serologische Untersuchungen über die Struktur und die Herkunft der Blutplättchen. — Archiv für experim. Path. u. Pharm. Bd. *92*, 1922. p. 231.

Sabin: Studies of living human blood-cells. — The Johns Hopkins Hosp. Bull. Bd. *34*, 1923. p. 277.

Sacerdotti: Le piastrine dei mammiferi e il siero antipiastrinico. — Arch. per le scienze med. 1908, Bd. *32*. p. 339.

Schilling: Neue Ansichten über den Bau und Wesen der kernlosen Erythrozyten und Blutplättchen. — Berliner hämatolog. Gesellsch. Fol. haematolog. Bd. *11*, 1911 (Zentralorg.) p. 101.

Schilling: Der Säugetiererythrozyt als vollständige Zelle und seine Beziehung zum Blutplättchen. — Münch. med. Wochenschr. Nr. *9*, 1911. — Anat. Anzeiger Nr. 40, 1911.

Schilling: Arbeiten über die Erythrocyten II—VII. — Fol. haematolog. Bd. *14*. 1912. (Archiv) p. 95. Se især Afsnit V p. 155: Über »Blutplättchen« und über Kernreste der kernlosen Erythrozyten.

Schilling: Die Lösung der Blutplättchenfrage und ihre Ergebnisse für Klinik und Pathologie. — Deut. med. Wochenschr. Nr. *49*. 1918. p. 1354.

Schilling: Die Zellteorie des Erythrocyten als Grundlage der klinischen Wertung anämischer Blutfunde. — Virch. Arch. Bd. *234*. 1921. p. 548.

Schmorl: Die pathologisch-histologischen Untersuchungsmethoden. 12—13. Opl. 1922.

Schridde: Untersuchungen über die Morphologie der Knochenmarksriesenzellen. — Sitzungsbericht d. Gesellsch. zur Beförderung d. ges. Naturwissenschaften. — Marburg. Nr. 8. Dez. 1905.

Schridde: Die Knochenmarks-Riesenzellen des Menschen. — Anat. Hefte, Bd. *33*. 1907. p. 4.

Schridde: Die Entstehung der Blutplättchen (der Säuger und der Thrombozyten der Vögel),

1) Versamml. deutsch. Naturforsch. u. Ärzte, (Path. Sektion), Karlsruhe, Sept. 1911. — Centralbl. f. allg. Path. u. path. Anat. Bd. *22*, 1911. p. 902. — Fol. haematolog. Bd. *12*, 1912, (Centralorg.) p. 436.
2) Freiburger med. Gesellsch. 11. Møde, Nov. 1911. — Deut. med. Wochenschr. Nr. *51*, 1911, p. 2408.

Schridde & Naegli: Hämatologische Technik. — 2. Opl. Jena 1921.

Schwalbe: Die Morphologie des Thrombus und die Blutplättchen. — Zieglers Beitr. Bd. 7. (Suppl.) 1905. p. 52.

Selling: A preliminary report of some cases of purpura hemorrhagica due to benzol poisoning. — The Johns Hopkins Hospit. Bull. Bd. *21*. 1910. p. 33.

Selling: Benzol als Leukotoxin. — Zieglers Beitr. Bd. *51*. 1911. p. 576.

Seeliger: Über Plättchenerzeugung und Phagocytose als Funktion der Knochenmarkriesenzellen. — Fol. haematolog. Bd. *29*. 1923. (Archiv) p. 23.

Steinbrinck: Thrombozytenfrage. — Zeitschr. f. klin. Med. Bd. *94*. 1922. p. 447.

Stöhr: Lehrbuch der Histologie. 19. Opl. Jena, 1922.

Tallquist: Über experimentelle Blutgift-Anämien. — Disput. 1899. (Helsingfors).

Thomsen: En Metode til direkte Tælling af Blodpladerne i Blodet. — Hospitalstidende Bd. *62*. 1919. p. 161.

Thomsen: En Mikrometode til Tælling af Blodplader. — Hospitalstidende Bd. *66*. 1923. p. 406.

Trembur: Serumbehandlung bei Hämophilie. — Mitt. Grenzgeb. d. Med. u. Chir. Bd. *20*, 1909, p. 819. (ref. Kaznelson 1919, p. 141).

Weidenreich: Diskussion i Tilslutning til *Schilling:* Erläuterungen zur Demonstration von Innenstrukturen der Erythrozyten und Blutplättchen, sowie von Kurloffkörpern. — Verhandl. der Anat. Gesell. München, 1912. Bd. *24* p. 225. Anat. Anzeiger (Beiheft). — Fol. haematolog. Bd. *13*. 1912. (Zentralorg.). p. 398.

Winogradow: Zur Frage von der Herkunft der Blutplättchen. — Fol. haematolog. Bd. *18*. 1914. (Archiv). p. 207.

Wittkower: Klinische und experimentelle Untersuchungen zur Blutplättchenfrage. — Zeitschr. für die ges. exp. Med. Bd. *25*. 1921. p. 73 og Bd. *26*. 1922. p. 250.

Wright: A rapid method for the differential staining of blood films and malarial parasites. — The Journ. of Med. Research. Bd. 7. Jan. 1902.

Wright: The origin and nature of blood platelets. — Boston Med. and Surg. Journ. Bd. *154*. 1906. p. 643.

Wright: Die Entstehung der Blutplättchen. — Virch. Arch. Bd. *186*. 1906. p. 55.

Wright: The histogenesis of the blood platelets. — Publications of the Massachusetts General Hospital. Boston. Bd. *3*. 1910. — Journ. of Morphology. Bd. *21*. 1910. p. 263.

Wright: A method for the differential staining of blood plates. — Boston Med. and Surg. Journ. Bd. *155*. 1906. p. 30.

Woodcock: Journ. Roy. Army Med. Corps. Bd. *37*. 1921. p. 321. (ref. Bedson p. 147).

Zannini: Di alcune propietà strutturali dei megacariociti in condizioni normali e patologiche. — Modena. Tip. Rossi, 1921. (ref. Cesaris-Demel 1924).

FORKLARING TIL FARVETAVLERNE.

Samtlige Farvetavler er Reproduktioner af Vandfarvetegninger, som jeg har udført med Benyttelse af Winkels Mikroskop (Immersion — Okular 4) og Abbé' Tegneapparat (Zeiss). Cellerne er forstørret 1460 Gange.

De tilgrundliggende Snitpræparater stammer alle fra Kaniner; Vævet er paa faa Undtagelser nær (Farvetavle 3, f, g, h, i) Knoglemarv, der er behandlet efter den af mig angivne Metode.

FARVETAVLE 1: *Fig. a.* Længst til venstre: typisk Megakaryocyt med azurofile Granula, lys, kransformet Kærne og »hyalin« Randzone. Indenfor Kærneringen ses ugranuleret Protoplasma, (sml. p. 108—110).

Til højre herfor: en ret stor, ejendommelig Celle med kugleformede Kranatinlegemer og azurofile, centralt lejrede Granula. Fomelementer af denne Art er ved Differentialtællingerne blevet betegnet med K. (sml. p. 108, 3 γ).

Fig. b. Megakaryocyt, hvis Granula ogsaa er beliggende centralt for Kærneringen.

Fig. c. Tre Megakaryocyter; den venstre partielt granuleret (sml. p. 109), den midterste fuldt granuleret og den højre ugranuleret (sidstnævnte er af samme Type som Cellen paa Farvetavle 2a).

FARVETAVLE 2: *Fig. a.* Stor, ugranuleret Megakaryocyt med lys, kransformet Kærne (sml. p. 111 øverst).

Fig. b. Ugranuleret Megakaryocyt, hvis Kromatinanordning maa betragtes som Tegn paa Kærnedeling.

Fig. c. »Fagocyterende« Megakaryocyt. Cellelegemet indeholder udelukkende pseudoeosinøfile Leukocyter (sml. p. 108, 3 α).

FARVETAVLE 3: *Fig. a—e.* Smaa, ugranulerede Megakaryocyter, der er identiske med de af Wright o. a. beskrevne »nøgne« Megakaryocytkærner (sml. p. 111 øverst).

Fig. f, g, h. Blodplader, behandlet som Vævsstykker (efter den paa p. 98 beskrevne Maade). Som Fixationsmidler er benyttet henholdsvis: Metylalkohol puriss., »Sublimat-Müller« og Helly-Maximows Væske.

Fig. i. Dobbelt underbundet Kar, indeholdende: Erythrocyter, Blodplader og kornede Udfældninger (sml. p. 96).

FARVETAVLE 4: *Fig. a og b.* Wright-Figurer (sammensatte Former) (i 4—5 μ tykke Snit) (sml. p. 68). Megakaryocyterne ligger opad tyndvæggede Knoglemarvskar. Lige udenfor Cellerne findes i Karrene en Del Protoplasmaforlængelser (ramt paa tværs og paa skraa). Paa Fig. a ses en Del typiske Blodplader: dels til venstre for Kæmpecellen, dels opad til venstre i det ovenforliggende Kar. Der findes dels nedadtil paa Fig. a og dels opad til højre paa Fig. b en transverselt ramt Megakaryocytpseudopodie.

FARVETAVLE 5: *Fig. a og b.* Wright-Figurer (enkle Form) (i 4—5 μ tykke Snit) (sml. p. 69). De bestaar af en solid, mørk Kærne, omgivet af ret sparsom Mængde Protoplasma. Paa Fig. a er en bugtet Pseudopodie blevet ramt saaledes, at Afgangsstedet og Spidsen er kommet med i samme Snit (sml. den skematiske Tegning paa p. 77). Paa Fig. b synes næsten hele Cellens Protoplasma at være medgaaet til Dannelse af den Wrightske Figur. *Fig. c.* Typisk Wright-Figur (i 4—5 μ tykt Snit). Cellen er ramt i sit største Plan, Pseudopodierne derimod snart paa langs, snart paa tværs. Een af Celleforlængelserne baner sig Vej gennem Karvæggen. Naar det ser ud, somom Cellen allerede har afgivet Protoplasmaforlængelserne et Stykke fra Karret, skyldes det dels Cellens Beliggenhed i Forhold til Karvæggen, dels den særlige Snitretning, hvori Megakaryocyten er blevet ramt (sml. p. 88 og den skematiske Tegning p. 77).

FARVETAVLE 6: To Wright-Figurer (i 8—10 μ tykke Snit) (sml. pp. 71 og 78—79).

Fig. a. Tilsyneladende intravaskulært lejret, stærkt grenet Megakaryocyt. Yderst til højre ses et Par Pseudopodier ramt dels transverselt, dels tangentielt. Præparatet omfatter baade selve Cellen og de i Snittet vertikalt stillede Pseudopodier.

Fig. b og c viser den ovennævnte Celle ved henholdsvis høj og lav Indstilling. Paa Fig. b. ser man udelukkende de transverselt ramte Pseudopodier (= Wrights Blodplader!). Paa Fig. c har man selve Megakaryocyten med dens ensartet granulerede Protoplasma.

Ved den vekslende Indstilling fra b til c lod det sig tydeligt iagttage, hvorledes de ensartede Celleforlængelser »løb« ind mod Cellelegemet og gik jævnt over heri.

Fig. d. To Megakaryocyters Celleforlængelser viser sig i dette Snit tydelig fingerformede og er tillige ramt paa forskellige Maader. Cellernes Relation til Karrene har ikke med Sikkerhed ladet sig bestemme.

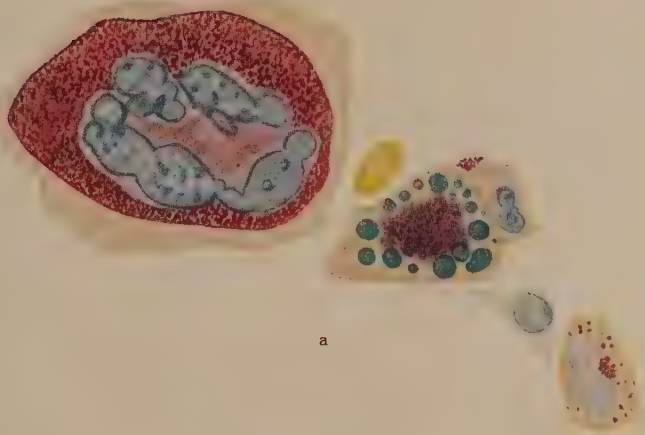
FARVETAVLE 7: En Wright-Figur fra 2 paa hinanden følgende Snit (à 4 μ) (sml. pp. 75—78). Granulahobe paa Fig. a staar i direkte Forbindelse med den uregelmæssigt formede Megakaryocyt paa Fig. b. En Megakaryocyt med mørk Kærne (opad til højre paa Fig. a) danner Supplement til den paa Farvetavle 5a afbildede Celle.

FARVETAVLE 8: To Megakaryocyter fra 3 paa hinanden følgende Snit (à 4 μ) Cellen til venstre danner en Wright-Figur. Tilsyneladende isolerede, azurofile Granulahobe (paa Fig. a) røber sig baade ved vekslende Indstilling og fra det ene Snit til det andet som cylindriske, let bugtede Legemer, der gaar over i Kæmpecellen (Fig. b og c).

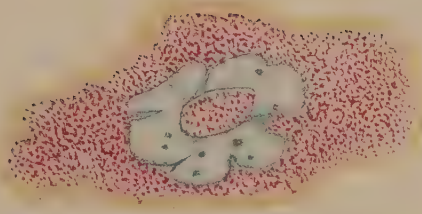
Bogen et trykt i
Vald. Pedersens Bogtrykkeri
København

✦

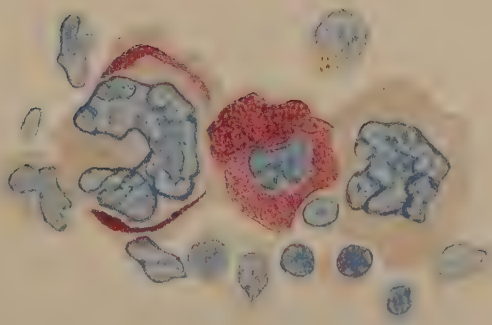
Farvetavler og Clichéer fra
Egmont H. Petersens kgl. Hofbogtrykkeri
København



a



b

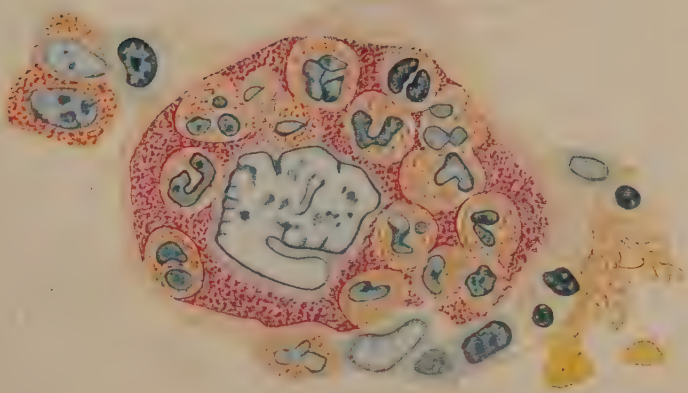


c

Tavle 1

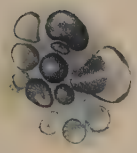
a

b



c

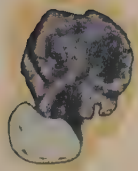
Tavle 2



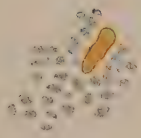
a

g

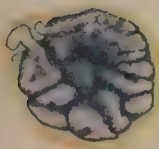
f



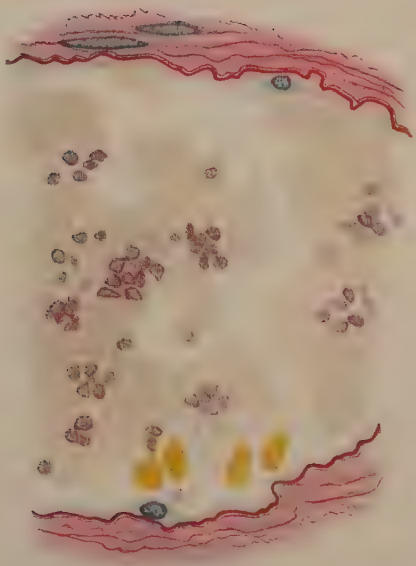
b



h

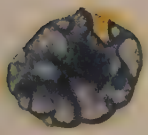


c



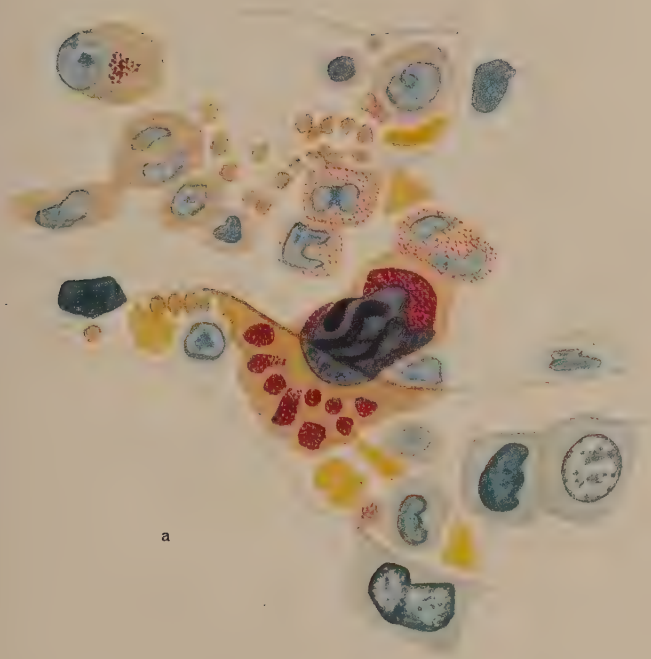
i

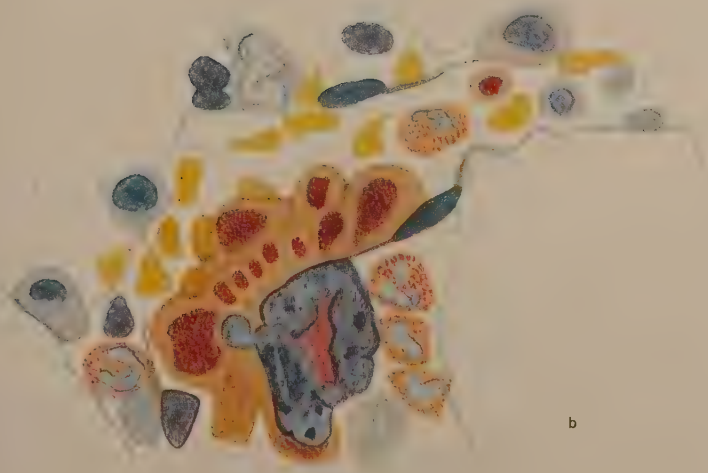
d



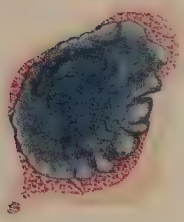
e

Tavle 3

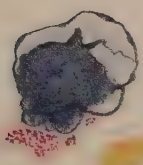




Tavle 4



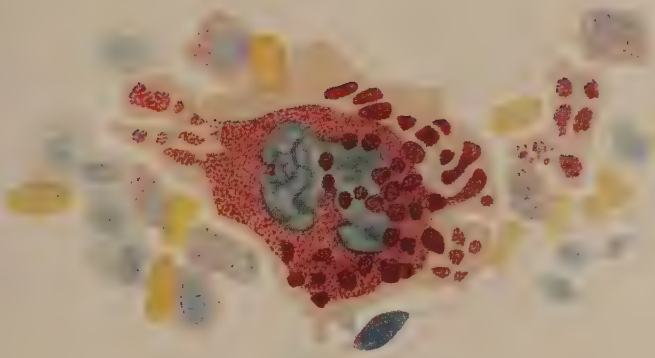
a



b

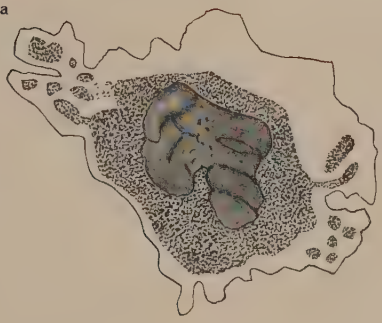
c

Tavle 5

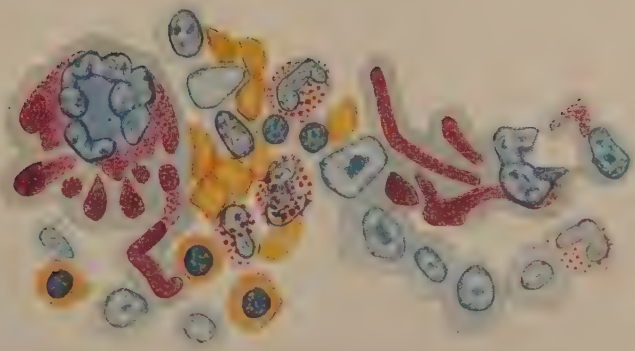


a

b

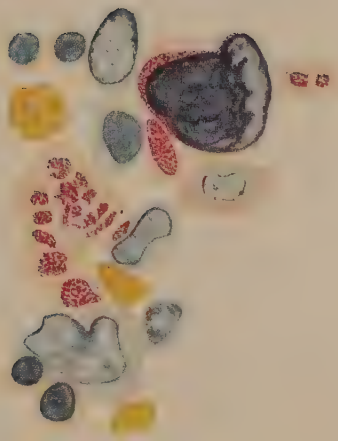


c

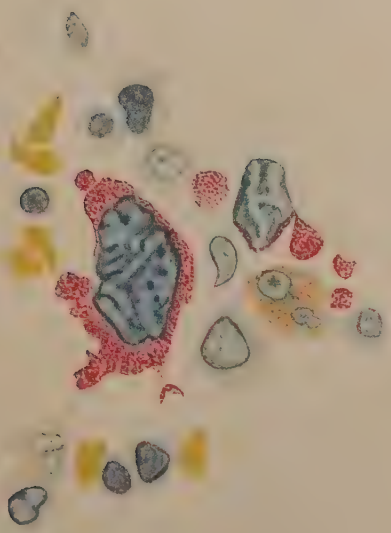


d

Tavle 6

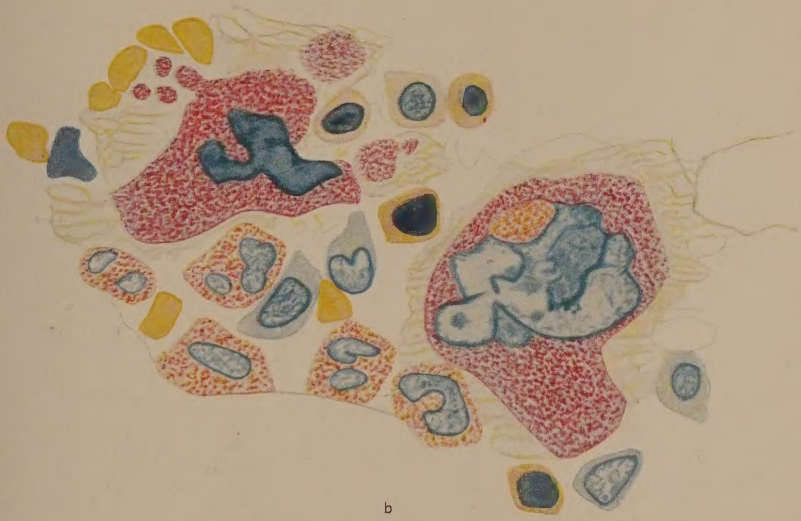


a

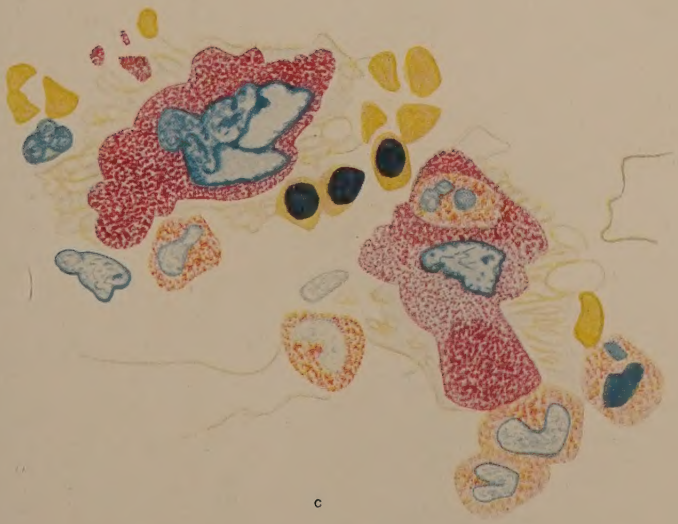


b

Tavle 7



b



c

Tavle 8

RETTELSER

p. **18**, 14. Lin. f. o.: (1915, 1916) **læs**: (1915)
p. **19**, 3. Lin. f. o.: *Gazzette* **læs**: *Gazzetti*
p. **19**, 6. Lin. f. n.: (1921) **læs**: (1921, 1922)
p. **20**, 17. Lin. f. o.: *Werlhofi* **læs**: *Werlhofii*
p. **20**, 12. Lin. f. n.: *Falkenhain* **læs**: *Falkenheim*
p. **21**, 8. Lin. f. o.: *Saccerdotti* **læs**: *Sacerdotti*
p. **28**, 17. Lin. f. o.: Princip: **læs**: Princip
p. **28**, 18. Lin. f. o.: 99 %) og derpaa Klaring i Xylol, dels **læs**: 99 % og derpaa Klaring i Xylol), og
p. **28**, 20. Lin. f. o.: 4 ν **læs**: 4 μ
p. **29**, 4. Lin. f. o.: aceton- **læs**: (aceton-
p. **39**, 8. Lin. f. o.: undvandes **læs**: udvandes
p. **44**, 4. Lin. f. o.: forskellig **læs**: forskellige
p. **49**, 17. og 22. Lin. f. o.: *Leishmanns-* **læs**: *Leishmans-*
p. **60**, 21. Lin. f. o.: *Naegli* **læs**: *Naegeli*
p. **63**, 9. Lin. f. n.: *Seelinger* **læs**: *Seeliger*
p. **73**, 8. Lin. f. o.: Arbejde **læs**: Arbejde (1924),
p. **78**, 18. Lin. f. o.: om de de uregelmæssigt **læs**: om de uregelmæssigt
p. **100**, 11. Lin. f. n.: *Naegli* **læs**: *Naegeli*
p. **107**, 10. Lin. f. n.: krandsformede **læs**: kransformede
p. **125**, 16. Lin. f. o.: 2,5 % **læs**: (2,5 %
p. **131**, 3. Lin. f. o.: *Deetjens* **læs**: *Deetjen*
p. **142**, 2. Lin. f. n.: fra centrifugeret **læs**: fracentrifugeret
p. **145**, 17. Lin. f. o.: ovennænvte **læs**: ovennævnte
p. **152**, 17. Lin. f. o.: fem Tal **læs**: femte Tal
p. **154**, 6. Lin. f. n.: Mikrometode: **læs**: Mikrometode)
p. **154**, 3. Lin. f. n.: felter) **læs**: felter))
p. **155**, 8. Lin. f. n.: 1 cm^3 Stykker **læs**: 1 cm' Stykker
p. **173**, 8. Lin. f. o.: fjernedes **læs**: fjernede
p. **189**, 1. Lin. f. o.: A. Aareladningsforsøg **læs**: Aareladningsforsøg
p. **189**, 2. Lin. f o.: 1. **læs**: A.
p. **192**, 15. Lin. f. o.: Følgende Sætning udgaar: Forsøg med simpel Aareladning
p. **221**, 9. Lin. f. o.: *Saccerdotti* **læs**: *Sacerdotti*
p. **227**, 11. Lin. f. o.: apelle **læs**: appelle
p. **228**, 10. Lin. f. o.: certains **læs**: certaines
p. **228**, 13. Lin. f. n.: teintés **læs**: teintes
p. **232**, 22. Lin. f. o.: *Virchov* **læs**: *Virchow*
p. **234**, 19. Lin. f. o.: differensation **læs**: différenciation
p. **239**, 17. Lin. f. o.: *Schridde & Naegli* **læs**: *Schridde & Naegeli*
p. **241**, 12. Lin. f. o.: Kranatinlegemer **læs**: Kromatinlegemer
p. **241**, 12. Lin. f. o.: Fomelementer **læs**: Formelementer
p. **242**, 15. Lin. f. n.: ovennnævte **læs**: ovennævnte
p. **244**, 1. Lin. f. o.: Bogen et **læs**: Bogen er